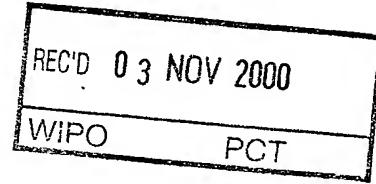


BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

EP 00/8813
4

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 199 45 916.9

Anmelddatag: 24. September 1999

Anmelder/Inhaber: BioteCon Diagnostics GmbH, Berlin/De

(vormals: BIOTECON DIAGNOSTICS GMBH,
Potsdam/DE)

Bezeichnung: Nukleinsäuremoleküle zum Nachweis von
Bakterien und phylogenetischen Einheiten von
Bakterien

IPC: C 07 H 21/00

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 21. September 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)


Dzierż

Nukleinsäuremoleküle zum Nachweis von Bakterien und phylogenetischen Einheiten von Bakterien

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuremoleküle, die die Identifikation von Bakterien oder Bakteriengruppen ermöglichen.

Bakterien sind ein allgegenwärtiger Bestandteil der menschlichen Umwelt. Sie verursachen jedoch als Lebensmittelverderber oder Krankheitserreger so häufig Probleme, daß einer effektiven, schnellen und zuverlässigen Diagnostik sehr große Bedeutung zukommt.

Zu den wichtigsten Mikroorganismen, die Lebensmittel verderben gehören *Clostridium Botulinum*, der Erreger des Botulismus, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium parvum*, enteropathologische *Escherichia coli* Stämme, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonellen* Spezies, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio vulnificus* und *Yersinia enterolytica*. In den USA hat das General Accounting Office (GAO) 1996 berichtet, daß 6,5-81 Millionen Fälle von Lebensmittelvergiftung jährlich vorkommen. Die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) schätzt, daß 2-3 % aller Lebensmittelvergiftungen zu sekundären chronischen Erkrankungen führt. Es wird außerdem geschätzt, daß jedes Jahr 2-4 Millionen Erkrankungen in den USA durch mehr als 2000 *Salmonella* Stämme verursacht werden. Diese Schreckensstatistik ließe sich für andere Lebensmittelverderber beliebig verlängern. Lebensmittelvergiftungen verursachen jedoch nicht nur menschliches Leid, im Extremfall den Tod, sondern auch einen beträchtlichen ökonomischen Schaden. Dieser wird in den USA für 1991 z.B. auf 5,6-9,4 Milliarden \$ geschätzt. Es ist allgemein bekannt, daß von Mikroorganismen als Infektionserreger große Gefahren ausgehen, die in ihrem Potential kaum abzuschätzen sind. Statistische Größenordnungen werden z.B. vom Weltgesundheitsbericht der WHO reflektiert. So waren 1998 Infektionserreger, inklusive Parasiten, für 9,8 Millionen Todesfälle verantwortlich (ohne prä- oder postnatale Infektionen), was einem Anteil von 18,2 %

an allen krankheitsbedingten Todesfällen entspricht. Die gefährlichen Erreger lassen sich nicht so gut zusammenfassen wie die Lebensmittelverderber, da sie sich aus vielen phylogenetischen Zweigen der Eubakterien rekrutieren. Ein besonders großes "infektziöses Potential" besteht vor allem innerhalb der Familie der Enterobakterien.

Im Kampf gegen humanpathogene Bakterien besteht ein wesentlicher Schritt in der Identifizierung des für eine Krankheit oder ein pathologisches Symptom ursächlichen Keims. Häufig können erst nach der Identifizierung geeignete medizinische Maßnahmen ergriffen werden. Darüber hinaus können gut funktionierende Nachweismethoden für Bakterien als präventive Werkzeuge der Qualitätssicherung von Lebensmitteln eingesetzt werden.

Der klassische Nachweis von Bakterien besteht in der mikrobiologischen Identifizierung, die in der Regel eine Vereinzelung auf Agar-Agar-haltigen selektiven Medien umfaßt. Dieses Verfahren hat jedoch zwei wesentliche Nachteile: erstens ist der Nachweis häufig nicht zuverlässig oder spezifisch. Zweitens benötigen viele Bakterien eine Wachstumszeit von mindestens 18 Stunden zur Vereinzelung als Kolonie. In vielen Fällen ist zudem eine Sekundärvereinzelung oder ein Sekundärnachweis erforderlich. Alles in allem sind dann Diagnosezeiten von bis zu einer Woche keine Seltenheit. Darüber hinaus gibt es auch pathogene Keime, die sich nicht kultivieren lassen (J.J. Byrd et al. 1991, Appl. Environ. Microbiol. 57, 875-878). In Zeiten schneller Transportwege und globalen Warenverkehrs sind jedoch schnelle diagnostische Verfahren, die im optimalen Fall nicht länger als 24 h dauern, essentiell, um eine Verbreitung Krankheitserregern oder global gestreute Lebensmittelvergiftungen aus nur einer lokalen Quelle zu verhindern.

Um modernen Anforderungen gerecht zu werden wurden in den letzten Jahren eine Reihe von Verfahren entwickelt, die eine schnelle und zuverlässige routinemäßige Identifizierung von Keimen leisten sollen. So nutzen z.B. immunologische Methoden die spezifische Bindung monoklonaler oder polyklonalaler Antikörper an bakte-

rielle Oberflächenantigene. Solche Verfahren werden insbesondere zur Serotypisierung, z.B. von Salmonellen verwendet. Im allgemeinen ist der Nachweis mit einem ELISA zwar relativ schnell, verlangt jedoch die Prozessierung und Isolierung des jeweiligen Antigens, was mit vielen Problemen behaftet sein kann. Als besonders leistungsfähig erwiesen sich bakterielle Nachweismethoden, die sich DNA-Sonden bedienen, denn sie sind sehr sensitiv, relativ spezifisch und lassen sich in einem experimentellen zeitlichen Gesamtrahmen von 2-3 Tagen zum Nachweis von Mikroorganismen nutzen.

Hintergrund der Erfindung

Die Erfindung besteht in der Bereitstellung spezifischer DNA-Sequenzen und in der Auswahl von DNA-Regionen, die zum Nachweis von Bakterien besonders geeignet sind. Dieser Anwendung liegt also die Identifikation von Organismen anhand ihrer Erbinformationen zugrunde. Abweichungen in der Nukleotidsequenz bestimmter DNA-Bereiche in mindestens einem einzigen Baustein können bereits zur Differenzierung von Spezies genutzt werden.

Historisch betrachtet wurden ribosomale RNA Gene bereits für die phylogenetische Einordnung von Organismen genutzt. Sequenzvergleiche von 5S und 16S ribosomalen Genen verschiedener Bakterien führten zu beträchtlichen Korrekturen bei verwandtschaftlichen Zuordnungen und zur Entdeckung des Reichen der Archaeabacteria. Aufgrund ihrer Größe und dem dementsprechend hohen Sequenzieraufwand wird die 23S RNA erst in den letzten Jahren zum Zwecke systematischer Einteilungen genutzt.

In praktischen Anwendungen war die direkte Sequenzierung von Genen zu identifizierender Mikroorganismen zu aufwendig und zeitraubend. In den 80er Jahren wurden deshalb insbesondere Nukleotidsonden zum Nachweis von Bakterien verwendet. Diese können zwar eine sehr gute Spezifität aufweisen, die Nachweisgrenze ist

jedoch häufig zu niedrig. Eine entscheidende Verbesserung erfuhr die Sondentechnologie in der Kombination mit Amplifikationstechniken, die also die nachzuweisende Nukleotidsequenz vermehren und dadurch die Sensitivität des Nachweises beträchtlich erhöhen. So ist es möglich im Extremfall ein einziges isoliertes Genom nachzuweisen. In der Praxis treten bei der Isolierung von DNA Verluste auf, die die Nachweisgrenze der Zellzahl auf ca. 10^2 bis 10^4 erhöhen.

Basierend auf Arbeiten der Grundlagenforschung wurden DNA-Sonden aus den 5S-, 16S- und 23S-Genen zur praktischen Anwendung genutzt. Erwähnt werden können z.B. die Patente Nietupski et al. (US 5,147,778) zur Detektion von *Salmonella*, Mann und Wood (US 6,554,144) zur Detektion von *Yersinia* Spezies, Leong (EP 0479117 A1) zur Detektion verschiedener gramnegativer und grampositiver Bakterien, Carico et al. (EP 133671 B1) zur Detektion verschiedener enterobakterieller Spezies, Shah et al. (EP 0339783 B1) zur Detektion von *Yersinia enterolytica*, Carrico (EP 0163220 B1) zur Detektion von *Escherichia coli*, Hogan et al. (WO 88/03957) zur Detektion von Spezies der Enterobakterien, *Mycobacterium*, *Mycoplasma* und *Legionella*, Leiser et al. (WO 97/41253) zur Detektion verschiedener Mikroorganismen, Grosz und Jensen (WO 95/33854) zur Detektion von *Salmonelle enterica*, Stackebrandt und Curiaie (EP 0314294 A2) zur Detektion von *Listeria monocytogenes*, Wolff et al. (EP 0408077 A2), Hogan und Hammond (US 5,681,698) zum Nachweis von *Mycobacterium kansasii*, Hogan et al. (US 5,679,520) zum Nachweis verschiedener Bakterien, Kohne (US 5,567,587) insbesondere zur Detektion von bakterieller rRNA, Kohne (US 5,714,324) zur Detektion verschiedener Bakterien, Pelletier (WO 94/28174) zum Nachweis von *Legionella* und *Kohne* (US 5,601,984) zum Nachweis verschiedener Bakterien. Das Gros der Patentschriften bezieht sich dabei auf die Sequenz des 16 S rDNA-Gens, viele auch auf die 23 S rDNA.

Es zeigte sich jedoch, daß letztere Gene für viele Differenzierungsleistungen in der praktischen Anwendung nicht geeignet sind, da sie zu stark konserviert sind. Insbe-

sondere nahe verwandte Mikroorganismen lassen sich nicht unterscheiden. Auf der anderen Seite wurde das 5 S rDNA-Gen in der Grundlagenforschung auf Grund der geringen Größe ursprünglich zwar für phylogenetische Studien genutzt, in der praktischen Anwendung ist es jedoch in der Regel zu variabel und das Differenzierungspotential zu gering.

Da 5 S, 16 S und 23 S rDNA-Gene als diagnostische Hilfsmittel mit vielen Nachteilen behaftet sind, wurde nach DNA-Regionen gesucht, die zur Identifizierung aller Eubakterien herangezogen werden können. Eine solche DNA-Region sollte sehr variable und zugleich stark konservierte Sequenzen aufweisen. Die variablen Bereiche wären dann zur Differenzierung nahe verwandter Spezies, wie Stämme und Arten, geeignet. Die konservierten Sequenzabfolgen wären zum Nachweis entfernt verwandter Bakterien oder von höheren taxonomischen Einheiten zu nutzen.

Im Kontext ausgedehnter Studien über ribosomale Operons wurde auch der 16 S-23 S-transkribierte Spacer in jüngster Vergangenheit in der Literatur diskutiert; die Anwendbarkeit in der systematischen Bakteriologie jedoch in Frage gestellt. So sehen Nagpal et al. (J. Microbiol. Meth. 33, 1998, S. 212) die Nutzbarkeit dieses Spacers äußerst kritisch: Ein besonderes Problem dieses transkribierten rDNA-Spacer liegt vor allem auch darin, daß er häufig tRNA-Insertionen enthält. Solche Insertionen stellen dramatische Sequenzabweichungen dar, und haben nicht notwendigerweise eine Relation zu phylogenetischen Abständen. Sie wurden jedoch in der Vergangenheit genutzt, um den durch sie verursachten Längenpolymorphismus als phylogenetisches Charakteristikum heranzuziehen (Jensen et al. 1993, Appl.

Envir. Microb. 59, 945-952, Jensen, WO 93/11264, Kur et al. 1995, Acta Microb. Pol. 44, 111-117).

Eine alternative Zielsequenz zur Identifizierung von Bakterien besteht in dem transkribierten Spacer zwischen 23 S und 5 S rDNA. So publizierten Zhu et al. (J. Appl. Bacteriol. 80, 1996, 244-251) den Nachweis von *Salmonella typhi* mit Hilfe dieser

diagnostischen DNA-Region. Die generelle Nutzbarkeit dieses Spacers zum Nachweis auch anderer Bakterien läßt sich aus dieser Arbeit aber nicht ableiten. Es gibt sehr viele Beispiele, die zeigen, daß eine DNA-Region nur zur Identifikation einer oder weniger bakterieller Spezies geeignet ist. Einzelne Patente implizieren eine mögliche, doch sehr begrenzte Anwendbarkeit des 23 S-5 S transkribierten DNA-Bereichs für die bakterielle Diagnostik. Sie alle haben gemeinsam, daß ihre Anwendbarkeit sich nur auf eine bakterielle Spezies bezieht, und zwar auf den Nachweis von Legionellen (Heidrich et al., EP 0739988 A1), von *Pseudomonas aeruginosa* (Berghof et al., DE 19739611 A1) und auf den Nachweis von *Staphylococcus aureus* (Berghof et al., WO 99/05159).

Der vorliegenden Erfindung lag das technische Problem zugrunde, Materialien und Verfahren anzugeben, die es ermöglichen, ein beliebiges Bakterium (vorzugsweise aus der Gruppe der Enterobakterien) in einem Untersuchungsmaterial nachzuweisen.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Nukleinsäuremolekül als Sonde und/oder Primer zum Nachweis von Bakterien, ausgewählt aus

- a) einer Nukleinsäure, umfassend, mindestens eine Sequenz mit einer der SEQ ID-Nrn. 1 bis 530 und/oder eine Sequenz aus Position 2667 bis 2720, 2727 bis 2776, 2777 bis 2801, 2801 bis 2832, 2857 bis 2896, 2907 bis 2931, 2983 bis 2999 und/oder 3000 bis 3032 gemäß SEQ ID Nr. 1; bzw. hierzu homologen Nukleinsäuren,
- b) einer Nukleinsäure, die spezifisch mit einer Nukleinsäure nach a) hybridisiert;
- c) einer Nukleinsäure, die 70 %, vorzugsweise mindestens 90 % Identität zu einer Nukleinsäure nach a) oder b) aufweist,

d) einer Nukleinsäure, die komplementär zu einer Nukleinsäure nach a) bis c) ist und/oder

Kombinationen der genannten Nukleinsäuren nach a) bis d), ausgenommen die SEQ ID No 1.

Die weiteren Ansprüche betreffen bevorzugte Ausführungsformen.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird das Vorliegen von Enterobakterien in einer Analysenprobe nachgewiesen, indem die Analysenprobe mit einer Sonde in Kontakt gebracht wird, die das Vorliegen einer Nukleinsäure aus dem 23S/5S rDNA Genomabschnitt der Enterobakterien nachweist.

Die in Anspruch 1 angegebene Sequenz mit der Nr. 1 stammt aus *E. Coli*. Homologe DNA Sequenzen sind solche, die anderen Bakterien als die gezeigte *E. Coli* Sequenz entstammen, wobei jedoch der Genomabschnitt der anderen Bakterien dem der SEQ ID Nr. 1 zugrundeliegenden Sequenz entspricht. Für nähere Einzelheiten wird auf die noch folgende Definition der homologen DNA Sequenzen verwiesen.

Das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül umfaßt vorzugsweise mindestens 10 Nukleotide, besonders bevorzugt mindestens 14 Nukleotide. Nukleinsäuremoleküle dieser Länge werden vorzugsweise als Primer eingesetzt, während als Sonde verwendete Nukleinsäuren vorzugsweise mindestens 50 Nukleotide umfassen.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform können auch Nukleotide der Sonde bzw. des Primers ersetzt sein durch modifizierte Nukleotide, enthaltend z. B. angefügte Gruppen, die letztlich einer Nachweisreaktion dienen. Besonders bevorzugte Derivatisierungen sind in Anspruch 4 angegeben.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden Kombinationen der genannten Nukleinsäuremoleküle eingesetzt. Die Zusammenstellung der Kombination aus Nukleinsäuremolekülen gestattet es, die Selektivität der Nachweisreaktion festzulegen. Dabei können durch Auswahl der Primerkombinationen und/oder Sondenkombinationen die Bedingungen der Nachweisreaktion so festgelegt werden, daß diese entweder generell das Vorhandensein von Bakterien in einer Probe nachweisen oder aber spezifisch das Vorhandensein einer bestimmten Bakterienspezies anzeigen.

Ein erfindungsgemäßer Kit enthält mindestens eine erfindungsgemäße Nukleinsäure zusammen mit den weiteren üblichen Reagenzien, die bei Nukleinsäurenachweisen eingesetzt werden. Hierzu zählen u. a. geeignete Puffersubstanzen und Nachweismittel wie Enzyme, mit denen beispielsweise gebildete biotinylierte Nukleinsäurehybride nachgewiesen werden können.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform, hierin auch als Konsensus PCR bezeichnet, wird das Verfahren gemäß Anspruch 8 durchgeführt. Dabei wird zunächst durch den Einsatz konservierter Primer (diese hybridisieren an Nukleinsäuren verschiedener bakterieller taxonomischer Einheiten) ein Nukleinsäurefragment amplifiziert und durch den Einsatz weiterer spezifischerer Nukleinsäuren (diese hybridisieren nur noch mit wenigen taxonomischen Einheiten oder nur einer bestimmten Spezies) werden dann spezifischere Nukleinsäureabschnitte nachgewiesen. Letztere erlauben dann den Rückschluß auf das Vorhandensein einer bestimmten Gattung, Art oder Spezies in der Analysenprobe.

In den eingesetzten Verfahren zum Nachweis von Nukleinsäure können die verschiedensten etablierten Nachweise verwendet werden. Hierzu zählen Southern Blot-Techniken, PCR-Techniken, LCR-Techniken usw.

In einer breit angelegten Studie wurde transkribierter Spacer zwischen 23S- und 5S-rDNA in seiner generellen Nutzbarkeit als diagnostisches Zielmolekül untersucht. Zu diesem Zweck wurde genomische DNA sehr vieler bakterieller Stämme isoliert, aufgereinigt, in einen Vektor kloniert, sequenziert und schließlich in einem umfangreichen Sequenzvergleich ausgewertet. Überraschenderweise war dieser Sequenzabschnitt durchaus zur Identifizierung fast aller bakteriellen Spezies geeignet. Ermutigt durch diesen Befund wurden die Analysen auf die benachbarten Bereiche des Spacers ausgedehnt. Alles in allem wurden DNA-Fragmente von allen bakteriellen Klassen oder kleineren phylogenetischen Einheiten untersucht. Sie haben eine Ausdehnung von 400-750 Basenpaaren und umfassen das Ende, d.h. speziesabhängig die letzten 330-430 Nukleotide des 23 S rDNA-Gens, den transkribierten Spacer und das komplette 5 S rDNA-Gen. Die Gesamtgröße der Fragmente beträgt 400-750 Basenpaare. Die Experimente zeigten, daß bei fast allen bakteriellen Spezies das 23S rDNA-Gen und das 5 S rDNA-Gen benachbart sind. Diese Erkenntnis ist eine wichtige Voraussetzung für die Nutzung und Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung.

Die vorliegende Erfindung beruht insbesondere darauf, daß eine DNA-Region zum Nachweis von Mikroorganismen ausgewählt wird, die wesentliche Anteile von mindestens zwei benachbarten Genen beinhalten kann. In der Praxis wird die Nützlichkeit des Bereiches insbesondere durch die phylogenetische Variabilität desselben bestimmt. Je nachdem ob entfernt verwandte Bakterien, bzw. taxonomische Einheiten oder ob Stämme einer Spezies bestimmt werden sollen, kann es diesbezüglich völlig konträre Anforderungen geben. Die Häufigkeit des Vorkommens sowohl variabler, als auch konservierter Regionen ist nun, wie am Beispiel des 23 S-5 S-Tandems gezeigt, bei zwei Genen größer als bei einem Gen. Das Nutzen von zwei benachbarten Genen, inklusive der variablen interkalierenden Sequenzen stellt also einen beträchtlichen Vorteil dar.

Es wurde ferner gefunden, daß das Ende des 23 S rDNA-Gens, der dazwischenliegende transkribierte Spacer und das 5S rDNA Gen, Nukleotidsequenzen enthalten, die ein vielfältiges Spektrum von sehr variabel bis sehr konserviert abdecken. Eine Feinanalyse dieser Region ergab sehr interessante weitere Aufschlüsse bezüglich des Differenzierungspotentials verschiedener phylogenetischer bakterieller Einheiten (Abb. 2, Tab. 6). Nahezu alle taxonomischen Einheiten sind unter Nutzung von Subbereichen nachzuweisen und/oder zu differenzieren. Dargestellt wurden in Abb. 2 mit den Sektionen 1-9 insbesondere mehr oder weniger variable Bereiche, während die stark konservierten diese interkalieren und diesen benachbart sind. Letztere eignen sich also besonders zum Nachweis hoher taxonomischer Einheiten, wie der gesamten Eubakterien oder von Klassen oder Abteilungen aus diesen.

Einen weiteren Hinweis über die Nutzbarkeit der Region gibt auch der phylogenetische Stammbaum aus Abbildung 1. Es ist zu erkennen, daß die 23 S rDNA-5 S rDNA-Region bezüglich der groben Klassifizierung ein sehr gute Differenzierung ermöglicht, da Mitglieder der Proteobakterien in 1-2 Gruppen angeordnet werden, während die Firmicutes abgetrennt sind. Des weiteren indiziert die Länge der Zweige auch bei nahe verwandten Spezies, daß sie sich gut voneinander unterscheiden lassen. Dabei ist eine phylogenetisch korrekte Zuordnung der eng Verwandten in dem Stammbaum durchaus unerwünscht, denn dann würden sie in einer eng zusammenliegenden koherenten Gruppe liegen und ließen sich möglicherweise nicht mehr so leicht voneinander unterscheiden.

Ausführliche Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1: Phylogenetischer Stammbaum einiger in dieser Arbeit nachgewiesener Bakterien. Es ist zu erkennen, daß die Proteobakteria und die Firmicutes abtrennbare Zweige bilden.

Abb. 2: Schematische Darstellung des hierin beschriebenen ribosomalen Bereiches bestehend aus dem terminalen Bereich der 23 S rDNA, dem transkribierten Spacer und der 5 S rDNA. Dieser Bereich oder Teile davon werden zum Nachweis von Bakterien verwendet. Eine detaillierte Charakterisierung einzelner Domänen ist Tabelle 6 zu entnehmen.

Abb. 3-7: Nachweis der Enterobakterien durch PCR. Gezeigt sind Ethidiumbromid gefärbte Gele. Das Vorhandensein von Banden ist charakteristisch für die Anwesenheit von Enterobakterien. In der oberen Hälfte der Abbildungen befinden sich die positiven Nachweise, in der unteren die Negativkontrollen. Die Verwendung der Primer ist in Tabelle 7 zusammengefaßt. Als DNA-Größenstandard wurde eine Mischung von Bgl 1 und Hinf 1 restriktionsverdauter pBR328-Plasmid-DNA (Boehringer Mannheim) verwendet. Die DNA-Leiter umfaßt die Restriktionsfragmentgrößen 154, 220, 234, 298, 394, 453, 517, 653, 1033, 1230, 1766 und 2176 Basenpaare.

Abb. 8: Schema einer Konsensus-PCR

Konservierte Primer sind peripher angeordnet, weniger konservierte liegen verschachtelt intern. Die Konsensus-PCR erlaubt zunächst die Amplifikation von DNA mit hoher taxonomischer Breite, im Extremfall aller bakteriellen Spezies. In nachfolgenden Schritten können weitere Amplifikationsrunden stattfinden, eventuell in separaten Reaktionsgefäßen, mit Primern, die für kleinere taxonomische Einheiten spezifisch sind. Im abschließenden Schritt können Sonden verwendet werden, die ebenfalls zur Spezifität des Nachweises beitragen und außerdem die Detektion, z.B. über Farbstoffe unterstützen können. In dieser Abbildung und hierin gilt folgende Nomenklatur: Primer A = die konserviertesten und peripher gelegenen Primer innerhalb des Nachweissystems, Primer [A, B, C,...] = Reihenfolge der Primer innerhalb der Verschachtelung wie oben gezeigt, Primer [Großbuchstabe]1 = vorwärts-Primer, Primer [Großbuchstabe]2 = rückwärts-Primer, Primer [Großbuchstabe] [Zahl] [Kleinbuchstabe] = die Kleinbuchstaben kennzeichnen ähnliche Primer oder

solche, die an homologen oder vergleichbaren Positionen innerhalb einer Ziel-DNA hybridisieren. Die Sonde liegt bevorzugt im zentralen, hochvariablen Bereich wenn Spezies oder Stämme nachgewiesen werden sollen.

Beispiel 1): Nachweis der Familie der Enterobacteriaceae

Aus Reinkulturen der in Tabelle 1 aufgeführten Bakterien wurde in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen wurden dann in einer PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz hatte die nachfolgende Zusammensetzung:

genomische DNA	- 1 μ l
H_2O	- 19,8 μ l
Puffer (10x) * ¹	- 2,5 μ l
dNTP (10 mM)* ²	- 0,25 μ l
vorwärts-Primer (10 μ M)* ³	- 0,20 μ l
rückwärts-Primer (10 μ M)* ³	- 0,20 μ l
MgCl_2	- 0,75 μ l
Taq-Polymerase (5 U/ μ l)* ¹	- 0,3 μ l

*¹ Puffer und Enzym von Biomaster oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*² Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*³ equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von je 10 μ M

Die PCR wurde in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	62 °C	1 min
	72 °C	30 s
finale Synthese	72 °C	5 min

Zur Identifikation der Familie der Enterobakterien wurden die in Tabelle 1 aufgelisteten Arten getestet. Die verwendeten Primerkombinationen und primerspezifischen Parameter sind in Tabelle 7 aufgelistet. Soweit mehr als ein vorwärts- oder rückwärts-Primer in Tabelle 7 angegeben ist, soll das jeweilige Gemisch verwendet werden.

Das Resultat der PCR wurde mittels Agarose-Gelelektrophorese und Anfärben mit Ethidiumbromid analysiert. Die Anwesenheit von PCR-Produkten ist indikativ für das Vorhandensein von Enterobakterien.

Die synthetisierten PCR-Produkte liegen meist in einer Größenordnung zwischen 400 und 750 Basenpaaren. Dabei können durchaus mehrere Banden auftreten, weil Ribosomale Allele bei vielen bakteriellen Spezies heterogen sind. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt und zeigen die umfassende Abgrenzung der Enterobakterien von Representanten anderer Taxa.

Beispiel 2): Nachweis einer bakteriellen Spezies am Beispiel von *Pantoea dispersa*

Aus Reinkulturen von Bakterien kann in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert werden. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen können in einer PCR eingesetzt werden. Der Reaktionsansatz kann folglich die nachfolgende Zusammensetzung haben:

genomische DNA	- 1 μ l
H_2O	- 19,8 μ l
Puffer (10x) * ¹	- 2,5 μ l
dNTP (10 mM)* ²	- 0,25 μ l
vorwärts-Primer A (10 mM)* ³	- 0,20 μ l
rückwärts-Primer (10 mM)* ³	- 0,20 μ l
$MgCl_2$	- 0,75 μ l
Taq-Polymerase (5 U/ μ l)* ¹	- 0,3 μ l

*¹ Puffer und Enzym von Biomaster

*² Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*³ equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von je 10 μ M.

Zum Nachweis von *Pantoea dispersa* können die Primerkombinationen SEQ ID 2 + Primer x1, SEQ ID (3-6) + Primer x1 oder die komplementäre Sequenz zu Primer x1 + die komplementäre Sequenz zu SEQ ID 147 verwendet werden. Dabei entspricht Primer x1 dem Nucleotid CGTTGCCCGCTCGCGCCGCTCAGTCAC. Primer x1 ist eine Partialsequenz aus SEQ ID 108.

Die PCR kann in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt werden:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	62 °C	1 min
	72 °C	20 s
finale Synthese	72 °C	5 min

Das Resultat der PCR kann mittels Agarose-Gelelektrophorese und Anfärben mit Ethidiumbromid sichtbar gemacht werden. Die synthetisierten PCR-Produkte liegen in einer Größenordnung von 370, 320 und 70 Basenpaaren. Die Abwesenheit von Amplifikaten ist indikativ für die Abwesenheit von genomischer DNA von *Pantoea dispersa*. Mit diesem experimentellen Ansatz lassen sich die in Tabelle 2 zusammengefaßten Ergebnisse erzielen.

Beispiel 3): Verwenden einer Konsensus-PCR in der Chip-technologie

3a) Prinzip der Konsensus-PCR

In einer Konsensus-PCR, wie schematisch in Abb. 8 gezeigt, werden mindestens zwei sogenannte Konsensus-Primer (A1, A2) verwendet, die in der Lage sind DNA von mindestens zwei taxonomischen Einheiten nachzuweisen. Bei diesen kann es sich um Stämme, Arten oder auch höhere taxonomische Einheiten wie Reiche oder Klassen handeln. In dem Detektionssystem folgt in mindestens einem zweiten Nachweisschritt die Differenzierung der amplifizierten taxonomischen Einheiten mittels einer weiteren PCR und/oder mit Sonden. Die PCR-Primer (B1, B2) des zweiten, bzw. folgenden Amplifikationsschritts werden jeweils so gewählt, daß sie innerhalb des Amplifikationsproduktes liegen und für eine bestimmte taxonomische Einheit ein Nachweispotential haben. Durch Verwendung weiterer Primer (C, D, E,...) kann ein Pool vieler taxonomischer Einheiten gegebenenfalls simultan eingeschränkt werden. Außerdem kann in einem Multiplex-Gemisch (z.B. A1a, A1b, A1c,) das Nachweispotential auf mehrere taxonomische Einheiten erweitert werden. Letzterer Fall liegt vor, wenn einzelne Nukleotide in einem Primer variieren oder die Primer völlig unterschiedlich sind. Die Nomenklatur der Konsensusprimer ist auch der Legende von Abb. 8 zu entnehmen.

Die Identifizierung von Amplifikationsprodukten kann durch die Primer erfolgen. Ein positiver Nachweis liegt dann vor, wenn die Primer die Ziel-DNA erkennen und

erfolgreich amplifizieren. Außerdem können Sonden einen spezifischen Nachweis leisten. Sie hybridisieren spezifisch an die amplifizierte DNA und erlauben durch direkte oder indirekte Koppelung an Farbstoffe den Nachweis einer bestimmten DNA-Sequenz. Alles in allem können Sonden in einer Vielzahl von dem Fachmann bekannten technischen Ausführungen eingesetzt werden. Genannt seien z.B. das Southern Blotting, die Lightcycler-Technologie mit fluoreszierenden Sonden oder die Chip-technologie, in der beliebig viele Sonden in einem Microarray angeordnet werden.

Besonders vorteilhaft für das Gelingen der Konsensus-PCR ist, daß die Primer in der Reihe A, B, C... zunehmend spezifisch werden. Durch die Auswahl der DNA-Zielregion gemäß Abb. 2 ist dies gewährleistet.

Die Konsensus-PCR hat den Vorteil, daß sie den simultanen Nachweis von mehr als zwei taxonomischen Einheiten aus nur einer Nukleinsäureprobe, die entsprechend klein sein kann, erlaubt. Der Zahl der nachweisbaren Mikroorganismen läßt sich dabei auf verschiedenen Wegen erhöhen. So wächst das Nachweispotential eines Konsensussystems mit der Zahl der Primerspezies A, B, C, ... oder A1a, A1b, A1c, ..., wie sie in Abb. 8 definiert sind. Auch läßt sich ein PCR-Ansatz nach einer ersten Durchführung mit einem Primerpaar A1, A2 trennen und in separaten Ansätzen mit weiteren Primerpaaren B1a + B2a, bzw. B1b + B2b amplifizieren. Schließlich kann die Identität von PCR-Amplifikaten durch Hybridisierung mit Sonden festgestellt werden.

3b) Beispiel des Nachweises einer Gruppe von Gattungen der Enterobakterien

Aus Reinkulturen von Bakterien kann in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert werden. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen können in einer PCR eingesetzt werden. Der Reaktionsansatz kann folglich die nachfolgende Zusammensetzung haben:

genomische DNA	- 1 µl
H ₂ O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * ¹	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* ²	- 0,25 µl
vorwärts-Primer (10 µM)* ³	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 µM)* ³	- 0,20 µl
MgCl ₂	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* ¹	- 0,3 µl

*¹ Puffer und Enzym von Biomaster

*² Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*³ equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von 10 µM.

Da in der Chiptechnologie i.d.R. sehr kleine Reaktionsvolumina verwendet werden, kann auch der obige Reaktionsansatz bei konstanten Konzentrationen reduziert werden. Eventuell ist auch ein Anpassung der PCR-Zykluszeiten erforderlich.

Für die Konsensus-PCR kann zunächst ein ribosomales DNA-Fragment amplifiziert werden. Dieser Vorgang kann spezifisch für größere taxonomische Einheiten sein, wie in Beispiel 1 beschrieben, wobei die dort beschriebenen Primer verwendet werden. Alternativ kann ein ribosomales DNA-Fragment von allen Bakterien amplifiziert werden. Ribosomale DNA eines sehr breiten taxonomischen Spektrums von Bakterien bietet z.B. die Verwendung der Primerkombination SEQ ID 211 + SEQ ID 212.

Die amplifizierte DNA wird nach Standardmethoden denaturiert und dadurch in einzelsträngige DNA überführt. Diese Form ist dazu geeignet an eine DNA, RNA oder PNA-Sonde zu binden. Entsprechend der Ausführungsform des Chips wird dann die Hybridisierung des Amplifikats mit der Sonde nachgewiesen. Alternativ kann ein Nachweis mittels eines ELISAs erfolgen. Die Sonde ist so beschaffen, daß sie eine den Anforderungen entsprechende Spezifität aufweist. Dementsprechend können Stämme, Gattungen oder größere taxonomische Einheiten nachgewiesen werden.

Tabelle 3 exemplifiziert den Nachweis einer Gruppe von Gattungen der Familie der Enterobakterien unter der Verwendung der Sonde GTTCCGAGATTGGTT als Teilsequenz von SEQ ID 164. Ein solcher Gruppennachweis ist in der Chiptechnologie besonders sinnvoll, wenn verschiedene Gruppennachweise miteinander überschneiden. In der Schnittmenge kann dann der Nachweis einer einzelnen Art oder von Gruppen von Arten, die z.B. für Lebensmitteluntersuchungen relevant sind, erfolgen.

3c) Verwendung der Konsensus-PCR zum Nachweis aller Bakterien

Zum Nachweis aller Bakterien werden in einer ersten Amplifikationsrunde Konsensus-Primer verwendet, die stark konserviert sind. Geeignet zur Sequenzauswahl sind Regionen, die peripher in dem ribosomalen Abschnitt gemäß Abb. 2 liegen. Sie ist demzufolge homolog zu den Bereichen der SEQ ID 1 beginnend bei Position 2571 bzw. endend bei Position 3112. Besonders geeignet aus dieser Region für eine generelle Amplifikation sind z.B. die Primer SEQ ID 211 (z.B. als Primer A1a) und SEQ ID 212 (z.B. als Primer A2a). Außerdem lassen sich leicht weitere Primer (A1b, A1c, bzw. A2b, A2c,) ableiten, die in einer Multiplex-PCR einen beliebig großen taxonomischen Bereich der Eubacteria erfassen. In dieser Nomenklatur sind die Primer A1 und A2 Primerpaare, B und C..... verschachtelte Primer bzw. A1a und A1b homologe oder ähnliche Primer.

Durch die Verwendung verschachtelter Primer (B, C, D,), kann eine erste Differenzierung erfolgen. Dieses kann zudem unterstützt werden, indem der primäre PCR-Ansatz geteilt wird, wobei dann in jedem separaten PCR-Ansatz z.B. ein Primerpaar B, bzw. C bzw. D usw. eingesetzt wird. Diese Verschachtelung ist deshalb besonders vorteilhaft, weil der ribosomale Bereich gemäß Abb. 8 von außen nach innen zunehmend variabel ist, wie es auch in Tab. 6 beschrieben ist. Sonden können dann vorzugsweise zur abschließenden Differenzierung und Identifizierung genutzt werden. Wenn z.B. Stämme oder Arten nachgewiesen werden sollen, dann sollte die Sonde zentral in Bereich 7 gemäß Abb. 2 hybridisieren.

In Tabelle 8 werden viele Polynukleotide zum Nachweis von Gattungen und Arten oder Stämmen in einer Konsensus-PCR zur Verfügung gestellt. Die Verwendung der Primer Nr. 1 aus Tabelle 8 wurde bereits ausführlich in Beispiel 1 beschrieben.

Die Polynukleotide folgen in ihren Eigenschaften der Charakterisierung aus Tabelle 6, bzw. Abb. 2. Das bedeutet, daß Primer A1 dem Bereich 1 aus Tabelle 6, bzw. Abb. 2 zugeordnet werden können, Primer A2 dem Bereich 2 , Primer B2 dem Bereich 8 und Primer A2 dem Bereich 9. Entsprechend diesem Konzept können die Primer A1-G1 aus Tabelle 8 als Vorwärtsprimer verwendet werden während die Primer B2 und A2 als Rückwärtsprimer genutzt werden können. Die Sequenzen für die letzteren beiden Primertypen müssen zu diesem Zweck konvertiert werden (Ausnahme Nr. 1 Tabelle 8). Als art- oder gattungsspezifische Sonden lassen sich besonders die "Primer H1" verwenden.

Das hierzu beschriebene Schema einer Konsensus-PCR ist nicht zwingend notwendig für einen erfolgreichen Nachweis. Im Prinzip können die in Tabelle 8 aufgelisteten Polynukleotide in jeder beliebigen Kombination eingesetzt werden. In der Praxis ist zunächst zu klären, welche Bakterien als "unerwünscht" im Nachweis ausgeschlossen werden sollen. Je nach Problemstellung kann dann abweichend von dem gezeigten Schema eine einfachere PCR-Version gewählt werden. Die einfachste Form der Konsensus-PCR besteht dementsprechend aus nur zwei Primern entsprechend den Sequenzen aus Tabelle 8, bzw. komplementären Sequenzen dazu.

Viele der in Tabelle 8 aufgelisteten konservierten Primer haben das Potential die DNA von höheren taxonomischen Einheiten, wie Klassen, Abteilungen oder Familien nachzuweisen. Wie Tabelle 6 zu entnehmen ist trifft dies insbesondere auf die peripheren Primer A oder homologe Sequenzen von SEQ ID 211 + SEQ ID 212 zu. In Tabelle 8 wird ein breiteres Nachweispotential für eine oder mehrere Gattungen oder Arten insbesondere durch die redundante Aufzählung der Sequenzen angezeigt. Falls nur eine Sequenz für eine Gattung explizit aufgezählt wird, so können zum Nachweis zwei Primer aus dieser Sequenz gewählt werden. Auch ist es möglich allgemeine Primer, z.B. Primer A von verwandten Gattungen, für die betreffende Bakterienklasse zu wählen und aus einer spezifischen Sequenz, z.B. "Primer h1" ei-

ne Sonde zu entwerfen. Soweit die Sequenzen sehr lang sind können Nukleotidfragmente von mindestens 15 Basen Länge aus diesen gewählt werden.

3d) Ausführung der Konsensus-PCR für die Chip-technologie

Die konkrete Ausführung der Konsensus-PCR wird im wesentlichen bestimmt durch die erwartete Zahl der nachzuweisenden taxonomischen Einheiten. Da die Konsensus-PCR in ihrer komplexesten Form auch eine Multiplex-PCR darstellt, kann in einem Reaktionsansatz nur eine limitierte Zahl von Bakterien bestimmt werden. Erfahrungsgemäß liegt diese Zahl unter 20. Aus diesem Grunde kann es vorteilhaft sein verschiedene PCR-Ansätze mit der gleichen Probe und unterschiedlichen Primern A, B etc. (Nomenklatur nach Abb. 8) durchzuführen.

Aus natürlichen Proben werden Bakterien zunächst angereichert oder mit an sich bekannten Standardverfahren wird genomische DNA direkt aus ihnen isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen können in einer PCR eingesetzt werden. Der Reaktionsansatz kann folglich die nachfolgende Zusammensetzung haben:

genomische DNA	- 1 µl
H ₂ O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * ¹	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* ²	- 0,25 µl
forwärts-Primer (10 mM)* ³	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 mM)* ³	- 0,20 µl
MgCl ₂	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* ¹	- 0,30 µl

*¹ Puffer und Enzym von Biomaster

*² Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*³ equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration der Primer 10 µM. Primer können z.B. entworfen und kombiniert werden wie unter 3c beschrieben.

Da in der Chip-technologie i.d.R. sehr kleine Reaktionsvolumina verwendet werden, kann auch der obige Reaktionsansatz bei konstanten Konzentrationen reduziert werden. Eventuell ist auch ein Anpassung der PCR-Zykluszeiten erforderlich.

Nach den Amplifikationsrunden wird die DNA vereinigt. Auf einem Chip werden Sonden, in einer spezifischen Ausführungsform aus den Sequenzen der Spalte "Primer H1" der Tabelle 8 ausgewählt werden können, immobilisiert. Technische Verfahren hierzu sind dem Fachmann bekannt. Die vereinigte DNA wird 1:1 mit Denaturierungspuffer (Bsp. 4) verdünnt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird das zehnfache Volumen Hybridisierungspuffer (Bsp. 4) dazugegeben und die Lösung langsam bei 37-60° C über den Chip, das heißt die mit Sonden behaftete Oberfläche, geleitet. Die so behandelte Chipoberfläche wird anschließend mit Waschpuffer (Bsp. 4) mindestens 2 min bei 37-60° C dreimal gewaschen. Abschließend kann die Detektion erfolgen. Hierzu können Primer verwendet werden, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt sind. Die Fluoreszenz kann dann mit einem Detektor, z.B. einer CCD-Kamera wahrgenommen werden. Es gibt jedoch viele verschiedene alternative Detektionsmöglichkeiten. So ist es z.B. auch möglich die Bindung der einzelsträngigen Amplifikationsprodukte an die Sonden durch Oberflächen-Plasmon-Resonanz-Spektroskopie (SPR) zu verfolgen und zu quantifizieren. Letztere Methode hat den Vorteil, daß keine Farbstoffe zur Detektion verwendet werden müssen. Bei Nutzung der SPR sollte selbige so ausgelegt sein, daß die Detektion simultan auf den Bereichen der Oberfläche erfolgt, die die gleichen Sonden besitzen. Eine besonders vorteilhafte Ausführung liegt dann vor, wenn viele, d.h. mehr als 100 oder 1000 separate Detektionsflächen auf dem Chip angeordnet sind. Ein Ansteigen des SPR-Signals, verursacht durch die Nukleinsäure-Hybridisierung auf diesen Flächen, stellt ein positives Ergebnis dar. Auf diese Wei-

se lassen sich mit den in Tabelle 8 aufgelisteten Primern die dazugehörigen Bakterien, oder im Prinzip alle Bakterien nachweisen und gegebenenfalls quantifizieren.

Beispiel 4) Nachweis von Mikroorganismen mit Sonden

Sonden sind als Polynukleotide, d.h. als DNA, RNA, PNA oder in einer ähnlichen Ausführungsform, die dem Fachmann geläufig ist, grundsätzlich geeignet die Konzentrierung und den Nachweis von DNA oder RNA zu leisten. Sie liegen als einzelsträngige Moleküle vor oder werden durch Denaturieren, was z.B. durch Erhitzen oder mit Natronlauge entsprechend publizierten Standardprotokollen erreicht werden kann, in diese Form überführt.

Zum Nachweis von Mikroorganismen muß die DNA oder RNA derselben aus diesen isoliert und eventuell gereinigt werden. Eine hohe Effizienz der Nukleinsäureausbeute kann durch verschiedene Maßnahmen erreicht werden:

- 1) die Mikroorganismen können mit physikalischen Methoden, z.B. mit an magnetischen Partikeln gekoppelten Antikörpern oder durch Zentrifugieren ankonzentriert werden;
- 2) die DNA oder RNA der Mikroorganismen kann in einer PCR oder vergleichbaren Amplifikationsreaktion amplifiziert werden;
- 3) die eventuell amplifizierte DNA oder RNA der Mikroorganismen wird im Verlauf der Reinigung mit kommerziell erhältlichem Material beim Aufreinigen ankonzentriert.

Die Verbesserung der Effizienz der Nukleinsäureausbeute, insbesondere durch Amplifikation, kann selbst bedeutend zur Spezifität des Nachweises der Bakterien beitragen.

Es folgt anschließend ein Inkubationsschritt, in welchem die Sonden mit den nachzuweisenden Nukleinsäuren (sofern die nachzuweisenden Mikroorganismen vorhanden waren) ein Hybridmolekül bilden. Die Bildung des Hybridmoleküls erfolgt unter kontrollierten Bedingungen. Ebenso folgen Waschschritte mit Puffern unter Bedingungen (pH-Wert, Temperatur, Ionenkonzentration), die die spezifische Hybridisierung von Nukleinsäuren erlauben, während weniger spezifische und unerwünschte Hybridmoleküle dissoziieren.

Abschließend erfolgt die Detektion von Hybridmolekülen. Zur Detektion gibt es eine Vielzahl von Ausführungsformen, die dem Fachmann im Einzelnen bekannt sind. Zum Einsatz kommen Farbstoffe, eventuell fluoreszierende, die direkt oder indirekt an die Sonden oder die nachzuweisende DNA gekoppelt werden oder in diese inkorporiert werden. Dieses kann insbesondere auch in der Chiptechnologie oder der Lightcyclertechnologie der Fall sein. Darüber hinaus gibt es andere physikalische Verfahren, wie z.B. verstärkte Totalreflektion des Lichts (attenuated total reflection) an Grenzoberflächen mit zwei unterschiedlichen Dichten, die zur Anwendung bei der Detektion der Hybridmoleküle kommen können.

Die Auswertung der Detektion kann auf verschiedene Weisen erfolgen. In einem „alles oder nichts“-Nachweis kann das Hybridmolekül nur nachgewiesen werden, wenn die gesuchten Mikroorganismen vorhanden waren. Wenn also die zuvor erwähnte Amplifikationsreaktion mit den Nukleinsäuren der Mikroorganismen zu keiner ~~Vermehrung der Nukleinsäuren~~ geführt hat, dann werden auch keine Hybridmoleküle nachweisbar sein. Wurden jedoch „unerwünschte“ Nukleinsäuren amplifiziert oder waren diese in großer Menge vorhanden, dann kann durch die Stringenzbedingungen bei der Hybridisierung ein Ausschluß dieser Nukleinsäuren erfolgen. Außerdem ermöglicht die Quantifizierung der Hybridmoleküle eine Feinabstimmung der Spezifität des Nachweises, indem ein Grenzwert für den positiven Nachweis festgelegt wird.

- Alle in diesem Patent spezifizierten Nukleinsäuren sind grundsätzlich als Sonde verwendbar. Ein Extrakt möglicher Sonden ist insbesondere in Tabelle 3 aufgelistet. Die Nukleinsäuren leisten den Nachweis der in der Tabelle genannten Gattungen und die Abgrenzung gegen alle anderen Gattungen der Eubakterien.

Nachfolgend sei exemplifiziert wie die hierzu spezifizierten DNA-Bereiche als Sonden zum Nachweis von Mikroorganismen eingesetzt werden können. In diesem Beispiel wird ein ELISA-Verfahren zur Detektion verwendet. Dabei werden Nukleinsäuren mittels einer enzymatischen Farbreaktion, die in Mikrotiterplatten abläuft, nachgewiesen.

Im vorliegenden Beispiel wird die DNA zunächst in einer PCR-Reaktion amplifiziert. Dabei werden Primer verwendet, die mit Digoxigenin gekoppelt sind. Anschließend wird eine mit Streptavidin beschichtete Mikrotiterplatte mit einer biotinmarkierten Sonde beladen, so daß es zu einer Kopplung der Sonden an die Plattenoberfläche kommt. Die alkalisch denaturierten PCR-Amplifikate hybridisieren in einer 30-minütigen Reaktion mit den Sonden. Das 5'-Digoxigenin markierte Ende der Amplifikate dient nun als Antigen für einen spezifischen Antikörper, welcher wiederum an das Enzym Peroxidase gekoppelt ist. Nach Zugabe von Tetramethylbenzidin kommt es zur Bildung eines blauen Farbstoffs. Die Entstehung dieses Farbstoffes wird mit 0,5 molarer Schwefelsäure gestoppt. Gleichzeitig schlägt die Farbe aufgrund der Verschiebung des pH-Wertes nach gelb um. Die Intensität der Absorption wird im ELISA-Reader bei 450 nm gemessen.

Zur Durchführung des ELISA werden die nachfolgenden Reagenzien angesetzt:

- Hybridisierungspuffer (2,5x SSC)

2,5 x SSC

62,5 ml von 20 x SSC (s. unten)

2 x Denhardts

20 ml von 50 x Denhardts (s. unten)

10 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038) 5 ml von 1 M Tris
 1 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699) 1 ml von 0,5 M EDTA
 mit bidest. Wasser auf 0,5 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

– Waschpuffer 1

1 x SSC 50 ml von 20 x SSC (s. unten)
 2 x Denhardts 40 ml von 50 x Denhardts (s. unten)
 10 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038) 10 ml von 1 M Tris
 1 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699) 2 ml von 0,5 M EDTA
 mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

– Waschpuffer 2

100 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038) 12,15 g
 150 mM NaCl (Merck, Nr. 6404.5000) 8,78 g
 0,05% Tween 20 (Serva, Nr. 37470) 0,5 g
 0,5% Blocking Reagenz (Boehringer) 5g in D1 (s. unten) bei 60°C lösen
 10 µg/ml Heringsperma 10 ml von der Stammlösung mit 10mg/ml
 mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

Denaturierungspuffer

125 mM NaOH (Fluka, Nr. 71690) 0,5 g
 20 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699) 0,745 g
 mit bidest. Wasser auf 0,1 l auffüllen

– Kopplungspuffer

10 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038) 10 ml von 1 M Tris
 1 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699) 2 ml von 0,5 M EDTA
 100 mM NaCl (Merck, Nr. 6404.5000) 5,88 g
 0,15% Triton X 100 (Chemikalienlager) 15 ml
 mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

- Stoppreagenz (0,5M H₂SO₄)

95%ige H ₂ SO ₄	14 ml
mit bidest. Wasser auf 0,5 l auffüllen	
- 50 x Denhardts

Ficoll 400 (Pharmacia Biotech, Nr. 17-0400-01) 5 g	5 g
Polyvinylpyrrolidon (Sigma, Nr. P-2307)	5 g
Rinder-Serumalbumin	5 g
mit bidest. Wasser auf 0,5l auffüllen	
- 20 x SSC

NaCl (Merck, Nr. 106404.1000)	350,36 g
Natriumcitrat (Trinatriumcitratdihydrat, Fluka, Nr. 71404)	176,29 g
mit bidest. Wasser auf 2 l auffüllen und pH 7,0 einstellen	
- D 1

100 mM Maleinsäure (Fluka, Nr. 63190)	11,62 g
150 mM NaCl (Merck, Nr. 106404.1000)	8,76 g
NaOH (Fluka, Nr. 71690)	ca. 7,5 g
mit bidest. Wasser auf 2 l auffüllen und pH 7,0 einstellen	

Durchführung des ELISA:

Pro Kavität werden 200 µl Bindungspuffer und 1 µl Sonde aufgetragen. Die Mikrotiterplatte wird mit einer Klebefolie abgedeckt und zwei Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die zu untersuchenden PCR-Amplifikate werden bei Raumtemperatur aufgetaut und im Verhältnis 1:1 mit Denaturierungspuffer versetzt und 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden 10 µl dieser Probe in die zwischenzeitlich entleerten Kavitäten gefüllt. Zusätzlich werden in jede Kavi-

tät je 100 µl Hybridisierungspuffer gegeben und 30 min bei 37-60° C inkubiert. Zum Waschen werden die Kavitäten entleert und mit 200 ml Waschpuffer 1, der auf 37-60° C vorgeheizt wurde, gefüllt und 2 min bei der gleichen Temperatur inkubiert. Dieser Waschschnitt wird dreimal durchgeführt.

Nachdem der Waschpuffer sorgfältig entfernt wurde, wird der Anti-Dig-POD-Antikörper (DAKO) 1:3000 verdünnt (1 ml in 3 ml Waschpuffer 2) und jeweils 100 ml dieser Lösung in die trockenen Kavitäten gefüllt. Diese Anordnung wird bei 37°C im Brutschrank für 30 Minuten inkubiert.

Anschließend wird die Mikrotiterplatte dreimal mit 200 ml Waschpuffer 2 je Vertiefung gewaschen. Pro Kavität werden nun 100 µl des Farbstoffs BM blue (Boehringer) hinzugegeben. Nach 15 min wird die Reaktion durch Zugabe von 100 µl 0,5 M H₂SO₄ gestoppt. Die Extinktion der Proben wird im ELISA-Reader quantifiziert.

In dem oben beschriebenen Verfahren lassen sich die in Tabelle 4 zusammengefaßten Sonden zum Nachweis der aufgeführten Arten verwenden.

Beispiel 5): Allgemeine Nutzbarkeit der in diesem Patent spezifizierten DNA-Regionen zum Nachweis von Bakterien

Die hierin spezifizierten ribosomalen DNA-Regionen, insbesondere wenn sie mit dem 23S-5S ribosomalen Spacer kombiniert werden, sind geeignet Eubakterien nachzuweisen. Der Fachmann ist in der Lage sehr schnell mit Hilfe der Sequenzen unter SEQ ID 1-530 oder unter Fokussierung auf die genannte ribosomale DNA-Region bakterielle taxonomische Einheiten seiner Wahl schnell zu identifizieren.

Nachfolgend ist ein möglicher Weg exemplifiziert, der die generelle Nutzbarkeit der vorliegenden Erfindung für alle eubakteriellen Spezies eröffnet.

Der hier beschriebene Weg umfaßt im wesentlichen 3 Schritte. Im ersten wird eine ribosomale Region, ungefähr umfassend die letzten 330-430 Nukleotide des 23S-Gens, der nachfolgend transkribierten Spacer und das ribosomale 5S-Gen amplifiziert. Da diese Region bei den verschiedenen eubakteriellen Spezies längenvariabel ist, hat sie eine Ausdehnung von insgesamt 400 bis ca. 750 Nukleotiden. Soweit die DNA-Sequenz noch nicht bekannt ist, kann es vorteilhaft sein, diese für die nachzuweisende und einige nahe verwandte abzugrenzende Spezies zu bestimmen. Aus einem Sequenzvergleich kann der Fachmann leicht die besten Oligonukleotide bestimmen, die den gewünschten Nachweis, z.B. als PCR-Primer oder Sonde leisten. Im vorliegenden Beispiel werden auf diese Weise sowohl Primer als auch Sonden ausgewählt. Alternativ können auch die hierin genannten Sequenzen direkt für ein breites Spektrum von Bakterien genutzt werden, insbesondere wenn die Stringenzbedingungen der PCR und/oder der Hybridisierung geeignet gewählt werden.

A) Amplifikation ribosomaler DNA

Der zu verwendende DNA-Abschnitt läßt sich aus genomischer bakterieller DNA der Proteobakterien und vieler anderer bakterieller Klassen mit den Primern SEQ ID 211 und 212 amplifizieren. Sollte es bei der Amplifikation von DNA anderer Klas-

sen Probleme geben, so werden Primer, die aus DNA-Regionen, welche der SEQ ID 211 und 212 entsprechen, abgeleitet sind, zum Erfolg führen.

Aus Reinkulturen der in Tabelle 5 aufgeführten Bakterien wird in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen wird dann in eine PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz hat die nachfolgende Zusammensetzung:

genomische DNA	- 1 µl
H ₂ O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * ¹	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* ²	- 0,25 µl
vorwärts-Primer (10 mM)* ³	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 mM)* ³	- 0,20 µl
MgCl ₂	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* ¹	- 0,3 µl

*¹ Puffer und Enzym von Biomaster oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*² Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von je 10 µM

Die PCR wird in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	52 °C	1 min
	72 °C	30 s

finale Synthese

72 °C

5 min

Genomische DNA, die zur Amplifikation verwendet werden kann, ist in Tabelle 5 beispielhaft aufgelistet.

B) Gattungs- und speziespezifische Amplifikation eines Unterbereichs des Produkts von A)

Das unter A) amplifizierte DNA-Produkt kann direkt zum Nachweis von Bakterien, insbesondere unter Verwendung spezifischer Sonden, genutzt werden. Es kann vorteilhaft sein, einen Teilbereich dieser Sequenz primär zu amplifizieren, wenn durch diesen Vorgang eine Beschränkung auf eine kleinere systematische Einheit der Bakterien, wie Arten, Gattungen oder Familien erreicht werden soll. Zumaldest ein Teil der Differenzierungsleistung kann dann bereits durch die Amplifikationsprimer erbracht werden. Der unter A) amplifizierte Bereich bietet eine Vielzahl von Subregionen, die spezifische Differenzierungsleistungen erbringen. Der Fachmann wird leicht diese Regionen durch einen Vergleich der Sequenzen von zu identifizierenden Bakterien mit nahe verwandten Bakterien erkennen.

In vorliegenden Beispiel wurden als Regionen für spezifische Primer der Beginn des 23S-5S transkribierten Spacers und das Ende desselben ausgewählt. Die konkreten Sequenzen und die Herkunft der Primer ist in Tabelle 5 zusammengefaßt. Aus dem Vergleich der Sequenzen ist zu erkennen, daß sie im wesentlichen einen speziespezifischen Nachweis leisten. Eine Ausnahme bilden die Primer für die Vibrio-Spezies, die auch schon einen gattungsspezifischen Nachweis erlauben. In den vorwärts-Primern ist insbesondere für Enterobakterien die Sequenz CGAAG...TTT und in den rückwärts-Primern die Sequenz AACAGAATT konserviert. Es gibt nun zwei Möglichkeiten die Spezifität der Primer auf Gattungen und Gruppen von Gattungen, z.B. aus den Enterobakterien, zu erweitern: erstens können die Annealing-

temperaturen der PCR erniedrigt werden. Zweitens können die Sequenzen der vorwärts-Primer in Richtung 23S-Gen und der rückwärts-Primer in Richtung 5S-Gen verschoben werden. Das Resultat sind Primer, deren Sequenzen weniger speziesvariabel sind. Die konkrete Ausführung kann dabei an die Anforderungen des Nachweises ausgerichtet werden. Hier sei der speziespezifische Nachweis mit den Primern der Tabelle 5 durch PCR-Amplifikation exemplifiziert.

Aus Reinkulturen der in Tabelle 5 aufgeführten Bakterien wird in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen wird dann in eine PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz hat die nachfolgende Zusammensetzung:

genomische DNA	- 1 μ l
H_2O	- 19,8 μ l
Puffer (10x) * ¹	- 2,5 μ l
dNTP (10 mM)* ²	- 0,25 μ l
vorwärts-Primer (10 mM)* ³	- 0,20 μ l
rückwärts-Primer* (10 mM)* ³	- 0,20 μ l
MgCl_2	- 0,75 μ l
Taq-Polymerase (5 U/ml)* ¹	- 0,3 μ l

*¹ Puffer und Enzym von Biomaster oder einem beliebigen anderen Lieferanten

*² Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

³ vorwärts-Primer A und rückwärts-Primer sind in Tabelle 5 aufgelistet, equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration der Primer von je 10 μ M

rückwärts-Primer* weisen die komplementäre Sequenz zu rückwärts-Primern nach Tabelle 5 auf

Die PCR wird in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	* 45-72 °C	1 min
	72 °C	30 s
finale Synthese	72 °C	5 min

* Die Annealingtemperatur kann nach den allgemein verwendeten Formeln für PCR-Primer bestimmt werden.

Das Ergebnis der Amplifikation ist in Tabelle 5 aufgelistet, d.h. der speziesspezifische Nachweis von Bakterien unter Verwendung der Primer der Tabelle 5 führt zur Identifikation der den Primern in dieser Tabelle zugeordneten Bakterien. Die Verwendung von allgemeineren Primern hingegen, deren Entwurf zuvor beschrieben wurde, kann zum Nachweis aller enterobakteriellen Gattungen oder zum Nachweis aller Gattungen des γ -Zweiges der Proteobakterien führen.

C) Weitere Spezifizierung des Nachweises durch Verwendung von Primern oder Sonden aus dem 23S-5S ribosomalen Spacer

Soweit nach den Schritten A) und/oder B) eine Amplifikation von DNA höherer taxonomischer Einheiten erfolgte kann anschließend durch die Auswahl von Sonden eine weitere Differenzierung des Nachweises erfolgen. Zum artspezifischen Nachweis kann ein variabler DNA-Bereich, z.B. ein zentraler Bereich des 23S-5S transkribierten Spacers verwendet werden. Die Sonden können dabei z.B. in einen Chip

integriert sein oder im Rahmen der Lightcyclertechnologie oder in einem ELISA verwendet werden. In letzterem Fall kann das ELISA-Protokoll von Beispiel 4 Anwendung finden. Die Resultate des speziespezifischen Nachweises von Bakterien entsprechen dabei der Auswahl des 23S-5S transkribierten Spacers, da dieser zum Großteil speziespezifische Sequenzbereiche aufweist. Bei Verwendung der Primer aus Tabelle 5 und Nutzung der entsprechenden Spacer (Spalte SEQ ID aus Tabelle 5) ist somit die Identifikation der in dieser Tabelle aufgelisteten Arten zu erreichen.

Erläuterungen verwendeter Begriffe:

Ableiten von DNA-Sequenzen:

Um ein Poly- oder Oligonukleotid, das zum Nachweis von taxonomischen Einheiten verwendet werden soll, zu finden und zu entwickeln, kann es von einer oder mehreren DNA-Sequenzen abgeleitet werden. Im Fall von mehreren Sequenzen ist dabei ein Alignment der Sequenzen, also ein Vergleich, vorteilhaft. Abgeleitete Oligonukleotide können zur ursprünglichen Sequenz identisch sein. Sie können außerdem einen Konsensus aus einer Menge von Variablen darstellen. In diesem Fall werden die Nukleotide des Polymers entsprechend den häufigsten oder vorherrschenden Bausteinen an einer bestimmten Position der analysierten Sequenzen ausgewählt.

Außerdem ist es möglich in einer zu entwickelnden Sequenz Variablen gemäß der Definition "Nukleotide" zu wählen. Die aus diesen variablen Sequenzen resultierenden DNA- oder RNA-Polymere stellen folglich ein Gemisch von Molekülen dar, das an den Positionen der Variablen alle erlaubten Nukleotide aufweist.

Analoge DNA-Sequenzen:

Analoge DNA-Bereiche haben die gleiche Funktion oder eine ähnliche Lokalisation wie eine vorgegebene Sequenz, sind jedoch nicht auf den gleichen phylogenetischen Ursprung zurückzuführen. Ein Beispiel ist gegeben mit dem transkribierten Spacer zwischen 5 S rDNA und 23 S rDNA, wenn er keine Ähnlichkeit mit einem zu vergleichenden transkribierten Spacer gleicher Lokalisation aufweist. Das ist mög-

lich, weil er bei entfernt verwandten Organismen häufig so variabel ist, daß eine stammesgeschichtliche Abstammung oder Homologie nicht mehr feststellbar ist. Der obige transkribierte Spacer ist jedoch als DNA-Sequenz und in seiner Funktion als transkribierter Spacer oder in seiner Lokalisation eindeutig definierbar, da er am Ende des kodierenden Bereiches der 23 S rDNA beginnt und am Anfang der 5 S rDNA endet.

Benachbarte Gene:

Gene sind benachbart, wenn sie durch kein anderes Gen getrennt sind oder wenn dieses bei zwei bestimmten Genen für den größten Teil der untersuchten Spezies zutrifft. Eine Trennung liegt nur dann vor, wenn ein weiteres Gen zwischen zwei anderen Genen liegt.

Enterobakterien

Die Enterobakterien sind eine Familie des γ -Zweiges der Proteobacteria. Der Begriff involviert alle taxonomischen Einheiten der Familie, insbesondere die Gattungen *Alterococcus*, *Aquamonas*, *Aranicola*, *Arsenophonus*, *Brenneria*, *Budvicia*, *Cedecea*, *Calymmatobacterium*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Koserella*, *Leclercia*, *Moellella*, *Morganella*, *Pantoea*, *Phlomobacter*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, *Yokenella*.

Eubakterien

Die Eubakterien bilden neben den Archaeabakterien ein Reich der Prokaryonten. Hierzu wurden "Bakterien" oder "Eubakterien" synonym verwendet. Mit dem Begriff sind alle taxonomischen Einheiten innerhalb dieses Reichen gemeint. Zu den Eubakterien gehören z.B. die Aquificales, Aquificaceae, Desulfurobacterium-Gruppe, Chlamydiales, Verrumicrobia-Gruppe, Chlamydiaceae, Simkaniaceae, Waddliaceae, Verrumicrobia, Verrumicrobiales, Coprothermobacter-Gruppe, Cya-

nobacteria, Chroococcales, Nostocales, Oscillatoriaceae, Pleurocapsales, Prochlorophytes, Stigonematales, Cytophagales, Gruppe der grünen Schwefelbakterien, Bacteroidaceae, Cytophagaceae, Flavobacteriaceae, Flexibacter-Gruppe, Hymenobacter-Gruppe, Rhodothermus-Gruppe, Saprospira-Gruppe, Sphingobacteriaceae, Succinovibrionaceae, Grüne Schwefelbakterien, Fibrobacter, Acidobacterium-Gruppe, Fibrobacter-Gruppe, Firmicutes, Actinobacteria, Acidomicrobidae, Actinobacteridae, Coriobacteridae, Rubrobacteridae, Sphaerobacteridae, Bacillus-Gruppe, Clostridium-Gruppe, Lactobacillus-Gruppe, Streptococcus-Gruppe, Clostridiaceae, Haloanaerobiales, Helio bacterium-Gruppe, Mollicutes, Sporomusa-Zweig, Syntrophomonas-Gruppe, Thermoanaerobacter-Gruppe, Flexistipes-Gruppe, Fusobacteria, Grüne Nicht-Schwefelbakterien, Chloroflexaceae-Gruppe, Chloroflexaceae, photosynthetische Flexibakterien, Holophaga-Gruppe, Nitrospira-Gruppe, Planctomycetales, Planctomycetaceae, Proteobacteria, Purpurnichtschwefelbakterien, Alpha-Unterabteilung der Proteobakterien, Beta-Unterabteilung der Proteobakterien, Gamma-Unterabteilung der Proteobakterien, Delta/Epsilon-Unterabteilung der Proteobakterien, Spirochetales, Leptospiraceae, Spirochaetaceae, Synergistes-Gruppe, Thermodesulfobacterium-Gruppe, Thermotogales, Thermus-Gruppe oder Deinococcus-Gruppe.

Gen:

Das Gen umfaßt den offenen Leserahmen oder kodierenden Bereich einer DNA. Es kodiert somit ausschließlich für ein Protein. Auch das Cistron ist ein Gen, das zusammen mit anderen Cistrons jedoch auf einer mRNA liegt. DNA-Regionen, die die Transkription des Gens regulieren, wie der Promotor, Terminator, Enhancer gehören ebenfalls zum Gen. Wenn in diesem Patent vereinfachend vom 23 S rDNA-Gen und 5 S rDNA-Gen die Rede ist, so geschieht dies in Anlehnung an übliche Bezeichnungen. Gemäß unserer Definition sei das 23S-rDNA-Gen oder das 5S-rDNA-Gen jedoch kein Gen, sondern ein eigenständiger funktioneller DNA-Abschnitt, da er nicht für ein Protein kodiert und nicht in Codons unterteilt werden kann.

Transkribierter Spacer:

Der hierin schwerpunktmaßig behandelte transkribierte Spacer liegt hinter dem kodierenden Bereich des 23 S rDNA-Gens und vor dem kodierenden Bereich des 5 S rDNA-Gens. In seiner systematischen Einordnung nimmt er eine Sonderstellung ein. Da er transkribiert wird, also Bestandteil der mRNA und eines biologisch inaktiven Vorläufermoleküls, der prae-rRNA, ist, gehört er nicht zum intergenischen Bereich. Das Vorläufermolekül wird durch Ausschneiden des transkribierten Spacer in ein im ribosomalen Kontext biologisch aktives Molekül verwandelt. Anderseits lässt er sich funktionell oder phylogenetisch auch nicht eindeutig dem 23 S-Gen oder 5 S-Gen zuordnen. Da der Genbegriff in diesem Fall zur Klassifizierung offensichtlich nicht herangezogen werden kann, sei der "transkribierte Spacer" der ribosomalen Operons gleichberechtigt zu dem "Gen" und der "intergenischen Region" eine eigenständige funktionelle DNA-(RNA-) Klasse.

Homologe DNA-Sequenzen

DNA oder RNA-Sequenzen sind dann homolog, wenn sie den gleichen phylogenetischen Ursprung haben. Das kann daran zu erkennen sein, daß mindestens 40 % der Nukleotide in einem DNA-Abschnitt identisch sind. In einem größeren DNA-Abschnitt können variable Abschnitte vorliegen. In dem Fall ist es ausreichend, wenn die phylogenetische Verwandschaft angezeigt wird durch das Vorhandensein einer 25 Nukleotide langen Sequenz, die mindestens zu 60 % identisch ist mit einer anderen 25 Nukleotide langen Sequenz der zu vergleichenden DNA. Außerdem können homologe Sequenzen häufig am besten erkannt werden, wenn ein Vergleich mit nahe Verwandten Organismen erfolgt. Zum Erkennen der Homologie von Sequenzen fern verwandter Organismen ist dann ein sequentieller Vergleich mit Sequenzen von Arten erforderlich, die den Abstand zu den fern verwandten phylogenetisch überbrücken.

Identische DNA-Sequenzen / Prozent Identität

Zur Bestimmung der Identität (im Sinne von vollständiger Übereinstimmung, entsprechend 100 % Identität) von DNA oder RNA-Sequenzen werden Teilsequenzen eines größeren Polynukleotids betrachtet. Diese Teilsequenzen umfassen 10 Nukleotide und sind dann identisch, wenn alle 10 Bausteine bei zwei Vergleichssequenzen identisch sind. Die Nukleotide Thymidin und Uridin seien identisch. Als Teilsequenzen können alle möglichen Fragmente eines größeren Polynukleotids betrachtet werden.

Dabei liegt 90 % Identität vor, wenn in den beiden zu vergleichenden Sequenzen in einem Abschnitt 9 von 10 Nukleotide bzw. 18 von 20 Nukleotide identisch sind.

Als Beispiel seien zwei Polynukleotide betrachtet, die 20 Nukleotide umfassen und sich in dem 5. Baustein unterscheiden. In einem Sequenzvergleich findet man dann sechs 10-er Nukleotide, die identisch sind und 5, die nicht identisch sind, da sie sich in einem Baustein unterscheiden.

Außerdem kann die Identität graduell bestimmt werden, wobei die Einheit in Prozent angegeben wird. Zur Bestimmung des Grades der Identität werden auch Teilsequenzen betrachtet, die minimal die Länge der tatsächlich genutzten Sequenz, z.B. als Primer, oder aber 20 Nukleotide umfassen.

Als Beispiel werden Polynukleotide A mit einer Länge von 100 Nukleotiden und B mit einer Länge von 200 Nukleotiden verglichen. Aus Polynukleotid B wird ein Primer abgeleitet mit einer Länge von 14 Nukleotiden. Zur Bestimmung des Grades der Identität wird Polynukleotid A mit dem Primer in seiner ganzen Länge verglichen. Wenn die Sequenz des Primers in Polynukleotid A vorkommt, wobei sie aber in einem Baustein abweicht, dann gibt es ein Fragment mit einem Identitätsgrad von 13:14 → 92,3 %.

Im zweiten Beispiel werden die zuvor genannten Polynukleotide A und B in ihrer Gesamtheit verglichen. In diesem Fall werden alle möglichen Vergleichsfenster einer Länge von 20 Nukleotiden angelegt und für sie der Identitätsgrad bestimmt. Sind also Nukleotid Nr. 50-69 von Polynukleotid A und B mit Ausnahme von Nukleotid Nr. 55 identisch, dann ergibt sich für diese Fragmente ein Identitätsgrad von 19:20 → 95 %.

Konservierte und variable Primer

Konservierte Primer sind Nukleotide die an konservierte DNA- oder RNA-Regionen hybridisieren. Der Begriff konserviert charakterisiert die evolutionäre Veränderlichkeit einer Nukleotidsequenz für Spezies verschiedener taxonomischer Einheiten. Er ist deshalb ein vergleichendes Maß. Je nachdem welche Sequenz zum Vergleich herangezogen werden kann ein Bereich bzw. Primer konserviert oder variabel sein. Die Charakterisierung des Primers als "konserviert" oder "variabel" erfolgt anhand unmittelbar angrenzender oder überlappender Regionen bezüglich des Hybridisierungsziels, die die gleiche Länge haben wie der Primer. Es können also Vergleichssequenzen vom gleichen Organismus oder homologe oder ähnliche Sequenzen von anderen Organismen gewählt werden. Beim Vergleich zweier Sequenzen ist eine konserviert, wenn sie mit der Vergleichssequenz zu mindestens 95% identisch ist und variabel, wenn sie zu weniger als 95 % identisch ist.

Verschachtelte Primer

Verschachtelte Primer werden insbesondere in der Konsensus-PCR verwendet. Es handelt sich dabei um Primer, die ein Fragment eines bereits amplifizierten Polynukleotids amplifizieren. Verschachtelte Primer hybridisieren also mit einem Bereich innerhalb eines bereits vermehrten DNA- oder RNA-Zielmoleküls. Die Amplifikation mit verschachtelten Primern kann dabei beliebig häufig geschehen, so daß sukzessive kleinere Amplifikationsprodukte entstehen.

Hybridisierung von DNA oder RNA

Zwei identische oder ähnliche Nukleotidfragmente können miteinander zu einem Doppelstrang hybridisieren. Eine solche Hybridisierung kann nicht nur stattfinden zwischen DNA-, RNA- oder PNA-Einzelsträngen, sondern es können auch Hybridmoleküle zwischen DNA und RNA, DNA und PNA, RNA und PNA usw. gebildet werden. Es gibt eine Reihe von Faktoren, die bestimmen ob zwei Polynukleotide hybridisieren. Eine Hybridisierung kann stattfinden in einem Temperaturrahmen von bevorzugt bei 37-60°C. Außerdem kann eine Hybridisierung unter diskreten Hybridisierungs- und Waschschriften ablaufen. Experimentelle Parameter zur Spezifizierung der Hybridisierungsbedingungen sind in Beispiel 4) gegeben. Dabei ist eine spezifische Hybridisierung dann gegeben, wenn mit der eingesetzten Sonde nur eine Hybridisierung mit der gewünschten Zielsequenz erfolgt und nicht mit einer anderen DNA, die ebenfalls in der Probe vorliegt.

Kombinationen in der Nutzung von Nukleotiden

Primer, Sonden, DNA-Fragmente, Unterbereiche von Polynukleotiden oder Oligonukleotiden können in vielen Kombinationen genutzt werden. Möglich sind z.B. die beliebige Kombination zweier Primer aus einer Gruppe von Primern, die beliebige Auswahl einer Sonde aus einer Gruppe von Sequenzen und die Auswahl von Primern aus der gleichen Gruppe von Sequenzen. In letzterem Fall können die Primer und Sonde(n) identisch oder verschieden sein. Primer oder Sonden können auch aus zwei oder mehreren DNA-Fragmenten zusammengesetzt sein, wobei alle möglichen Variationen der Zusammensetzung in Betracht kommen. Kombinationen sind auch möglich in der Abfolge von distinkten PCR-Schritten mit verschiedenen Primern und dem Einsatz von Sonden.

Konsensus PCR

Eine Konsensus-PCR wird mit Konsensusprimern durchgeführt. Diese sind in der Lage die DNA von mindestens 2 taxonomischen Einheiten, im Idealfall von allen taxonomischen Einheiten, zu amplifizieren. In nachfolgenden Analyseschritten wird die Identität der amplifizierten DNA bestimmt. Zu diesem Zwecke werden entweder weitere PCR-Schritte durchgeführt, die gegebenenfalls mit variablen, verschachtelten Primern bezüglich kleinerer taxonomischer Einheiten diskriminieren. Die finale Bestimmung einer taxonomischen Einheit kann außer mit variablen Primern auch mit spezifischen Sonden durchgeführt werden.

Nukleotide

Nukleotide sind die Bausteine der DNA oder RNA. Dabei bedeuten die Abkürzungen:

G = Guanosin, A = Adenosin, T = Thymidin, C = Cytidin, R = G oder A, Y = C oder T, K = G oder T, W = A oder T, S = C oder G, M = A oder C, B = C, G oder T, D = A, G oder T, H = A, C oder T, V = A, C oder G, N = A, C, G oder T, I = Inosin.

Taxonomische Einheiten

Taxonomische Einheiten der Bakterien sind alle bekannten bekannten taxonomischen Unterteilungen, wie z.B. Reiche, Klassen, Abteilungen, Ordnungen, Familien, Gattungen, Arten, Stämme, Zwischeneinheiten dieser taxonomischen Einheiten, wie Unterklassen, Unterordnungen, Unterfamilien etc. oder Gruppen dieser taxonomischen Einheiten.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung umfaßt im wesentlichen 5 Teilespekte, die die Erfindung in allgemeiner Form und in speziellen Aspekten wiederspiegeln:

- Strategische Auswahl von DNA-Zielregionen unter Nutzung benachbarter Gene
- Beschreibung der Nutzung einer ribosomalen DNA-Region aus dem Ende der 23 S rDNA, dem transkribierten Spacer und Teilen der 5 S rDNA zum Nachweis aller Bakterien
- Bereitstellung von Primern und Sonden für eine Vielzahl von Bakterien
- Nachweis der Familie der Enterobakterien und deren Mitglieder
- Anwendung einer Konsensus-PCR zum Nachweis aller Bakterien

Strategische Auswahl von DNA-Zielregionen unter Nutzung benachbarter Gene

Die Erfindung besteht in der Nutzung von Anteilen benachbarter Gene zum Nachweis von taxonomischen Einheiten, d.h. Reichen, Klassen, Abteilungen, Familien, Gattungen und Stämmen, sowie von Zwischenformen dieser Einheiten. Der Vorteil der Erfindung liegt darin, daß DNA-Bereiche, die zwei Gene überspannen bezüglich der Variabilität sehr heterogen zusammengesetzt sind, wie am Beispiel der ribosomalen Operons, insbesondere dem 23S/5S rDNA Abschnitt, gefunden wurde. Durch das Vorhandensein von sehr stark und sehr wenig konservierten Bereichen ist der Fachmann in die Lage versetzt, alle möglichen nahe und auch fern verwandten Organismen nachzuweisen.

Beschreibung der Nutzung einer ribosomalen DNA-Region aus dem Ende der 23 S rDNA, dem transkribierten Spacer und Teilen der 5 S rDNA zum Nachweis aller Bakterien

Insbesondere ein 23 S-5 S rDNA Bereich umfassend ca. 400-750 Nukleotide kann zum Nachweis von Bakterien genutzt werden. Letztere Region besteht aus ca. 330-430 Nukleotiden des terminalen Bereichs der 23 S rDNA, dem anschließenden

transkribierten Spacer und dem 5 S rDNA-Gen. In einzelnen Fällen kann zudem ein t-RNA-Gen in den Spacer insertiert sein und wird für den Nachweis mitgenutzt. Die beschriebene Region entspricht somit den Nukleotiden 2571-3112 der SEQ ID 1, welche die 23 S und 5 S rDNA-Gene von *Escherichia coli* darstellt. Durch einen dem Fachmann vertrauten Sequenzvergleich lassen sich die homologen und dem obigen Bereich entsprechenden Abschnitte anderer Bakterien bestimmen. Insbesondere bei Angehörigen gleicher Familien oder auch Odnungen oder Abteilungen lässt sich der Beginn des oben skizzierten Bereichs am Terminus der 23 S rDNA-Gens und das Ende des 5 S rDNA-Gens durch einen Vergleich der ribosomalen DNA-Sequenzen zweier Arten A und B leicht bestimmen. Sollte dies für einen Vergleich der Arten A und einer weiter entfernten Art C nicht so leicht möglich sein, so kommt man zu dem gewünschten Ergebnis, indem man einen Vergleich zwischen den Sequenzen der Arten B und C durchführt, wobei B und C miteinander näher verwandt sein sollten. Durch eine Reihe von separaten Sequenzvergleichen können auf diese Weise die der obigen Region entsprechenden homogenen ribosomalen Bereiche der 23 S rDNA, des transkribierten Spacers und der 5 S rDNA aller Eubakterien bestimmt werden. Aufgrund von Variabilität einzelner Subbereiche können dabei durchaus Längenunterschiede von mehreren hundert Nukleotiden auftreten. Des Weiteren erlaubt die vorliegende Erfindung die Nutzung von Unterbereichen der oben beschriebenen Region. Ein Großteil dieser Bereiche ist in Tabelle 6 beschrieben.

Bereitstellung von Primern und Sonden für eine Vielzahl von Bakterien

Neben der generellen Beschreibung des nutzbaren rDNA-Bereichs werden auch Sequenzen (SEQ ID 1-530) bereitgestellt, die zum Zwecke des Nachweises von Bakterien verwendet werden können. Je nach Aufgabenstellung können dabei die in SEQ ID 1-530 spezifizierten Polynukleotide komplett verwendet werden, oder Fragmente aus diesen. Die unter SEQ ID 1-530 spezifizierten Sequenzen stammen

dabei aus dem zuvor beschriebenen Bereich des 23 S-rDNA-Gens, transkribierten Spacers und 5 S rDNA-Gens.

In der technischen Ausführung kann der Nachweis von Organismen mit Hilfe der hierzu spezifizierten DNA-Bereiche und Sequenzen durch Sonden und/oder Primer erfolgen. Primer sind Nukleotide, die als Startermoleküle für die Amplifikation dienen. Sie lagern sich dabei an die Zielsequenz an, woraufhin die Region mit Hilfe einer Polymerase neu synthetisiert wird. Durch den Grad der Identität der Primer mit der Zielsequenz lässt sich deren Spezifität einstellen. Die taxonomische Spezifität wird zudem durch die Auswahl der Zielsequenz innhalb des hierin beschriebenen ribosomalen Bereichs determiniert (s. auch Tabelle 6). Dementsprechend können Primer also auf verschiedene Weisen genutzt werden: so ist es z.B. möglich den gesamten Bereich entsprechend Abb. 2 oder homolog zu den Nukleotiden Nr. 2571-3112 der SEQ ID 1 (E. coli) mit den Primern SEQ ID 211 und 212 zu amplifizieren. Um die Amplifikation zu optimieren kann auch ein Gemisch von mehr als zwei Primern eingesetzt werden. Außerdem ist es möglich die Primer so zu wählen, daß nur die DNA bestimmter Bakterien amplifiziert wird. In diesem Fall geben sie also zweierlei Informationen: Erstens zeigen sie die Anwesenheit und zweitens die Identität der gesuchten Bakterien im Falle positiver Amplifikation. Durch sequentielle Amplifikationsschritte mit verschachtelten Primern kann der Informationsaustausch am Ende der DNA-Synthese nach den Erfordernissen gelenkt werden.

In einem distinkten Schritt kann die DNA, die idealer Weise zuvor amplifiziert worden ist, mit Sonden gebunden, ankonzentriert und nachgewiesen werden. Sonden sind also Oligonukleotide oder Polynukleotide, die an einzelsträngige DNA-Abschnitte binden können. Die Affinität der Sonden zur Zielsequenz wird durch den Grad der Identität mit dieser bestimmt. Außerdem haben die Hybridisierungsbedingungen einen signifikanten Einfluß, d.h. Salzkonzentration der Puffer, Inkubationszeit und -temperatur müssen optimiert werden. Der Fachmann ist in der Lage diese Parameter mit Hilfe gängiger Methoden schnell zu optimieren. Exemplarische Hy-

bridsierungsbedingungen sind in den Beispielen gegeben. Sonden können ganz analog wie Primer zweierlei leisten: erstens können sie die Anwesenheit von bakterieller DNA oder von Amplifikationsprodukten zeigen; zweitens können sie zur Detektion der DNA bestimmter Bakterien beitragen. In dieser Dualität ihrer Funktion gleichen sie also den Primern. Demzufolge kann es also zwischen Primern und Sonden zu einer Aufgabenteilung bei der Identifizierung von Organismen kommen. Außerdem können die Sonden ebenso wie die Primer aus frei wählbaren Bereichen des terminalen Bereichs der 23-S-rDNA, des transkribierten Spacers oder der 5-S-rDNA stammen oder auch den gesamten Bereich umfassen.

Ein besonderer Vorteil der vorliegenden Erfindung liegt darin, daß der ausgewählte ribosomale Bereich gemäß Abb. 2 heterogen aus sehr variablen und sehr konservierten Regionen in einem extrem breiten Spektrum zusammengesetzt ist. Da es sehr viele Kombinationen in der Nutzung von Subregionen, z.B. gemäß Tabelle 6 gibt, bietet die vorliegende Erfindung eine Nachweismöglichkeit für alle bakteriellen Spezies und taxonomischen Einheiten.

Nachweis der Familie der Enterobakterien und deren Mitglieder

Mit Hilfe der hierin charakterisierten DNA-Zielregion können z.B. bakterielle Familien wie die Enterobacteriaceae nachgewiesen werden (Bsp. 1). Die Enterobakterien sind eine homogene taxonomische Einheit des γ -Zweiges der Proteobakterien oder Purpurbakterien. Sie sind deshalb von besonderem Interesse, weil ihnen viele pathogene Bakterien angehören, wie *Escherichia coli* (EHEC etc.), *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*. Sie eignen sich also als Markerorganismen, um den hygienischen Zustand von Lebensmitteln zu überprüfen. In der klinischen Mikrobiologie kann der Nachweis von Enterobakterien, einen ersten Schritt bei der Eingrenzung oder Identifizierung pathogener Keime darstellen. Aus der hierin enthaltenen Auflistung sind z.B. die Primer SEQ ID 2-25 in verschiedenen Kombinationen geeignet die Enterobakterien als Familie zu identifizieren. Viele der aufgelisteten Sequenzen sind au-

Berdem geeignet einzelne Mitglieder der Enterobakterien, d.h. Gattungen, Spezies und Stämmen zu indentifizieren. Weitere Sequenzen werden auch für die übrigen taxonomischen Einheiten der Proteobakterien, insbesondere den gesamten γ -Zweig und außerdem für die Firmicutes bereitgestellt. Mit der Beschreibung der ribosomalen Region gemäß Abb. 2 wird ein weiterer Weg aufgezeigt, wie der Fachmann leicht weitere Sequenzen gewinnen kann, um alle Eubakterien nachzuweisen.

Anwendung einer Konsensus-PCR zum Nachweis aller Bakterien

Ein besonderer Vorteil unserer Erfindung liegt darin, daß die DNA-Zielregion, wie sie in Abb. 2 beschrieben ist, sich in idealer Weise in einer Konsensus-PCR nachweisen läßt. Eine wesentliche Voraussetzung für die experimentelle Anwendbarkeit dieser Methode ist, daß die Sequenzen innerhalb einer zu amplifizierenden Zielregion zunehmend variabel werden. Diese Konfiguration ist in dem von uns charakterisierten Bereich des ribosomalen Operons für alle untersuchten Spezies erfüllt.

Das Schema der Konsensus-PCR ist in Abb. 8 umrissen. In der Regel wird zunächst ein "Masterfragment" amplifiziert. Dieses kann dem Gesamtfragment entsprechend Abb. 2 gleichen oder ein Teil davon sein. Wenn nun in einer Probe verschiedene zu identifizierende Keime vorliegen, so wird für alle dieses Fragment amplifiziert. Die einzelnen Keime werden schließlich mit spezifischen Sonden und/oder in Kombination mit weiteren PCR-Schritten identifiziert. Der Nachweis mit Sonden kann auch miniaturisiert sein und auf Chips erfolgen. Alternativ kann ein Nachweis im klassischen ELISA-Verfahren erfolgen. Die Komponenten des Bakteriennachweises können in Form eines Kits bereitgestellt werden.

Vorteilhaft zur Detektion sind insbesondere fluoreszierende Farbstoffe. Diese können an die Primer oder die Sonden gekoppelt werden. Insbesondere im ELISA oder in Southern Blot-Verfahren werden jedoch häufig auch nicht-fluoreszierende Farbstoffe verwendet. Eine weitere Möglichkeit des Nachweises besteht mit der Gene-

trak- und Lightcycler-Technologie. Im Prinzip bieten alle diese Verfahren die Opti-
on eines quantitativen Nachweises. Es ist also möglich durch Auswertung des De-
tektionssignals letztendlich auf die Zahl der in einer Probe vorhandenen Bakterien
rückzuschließen.

Der Nachweis von Bakterien mit Hilfe der vorliegenden Erfindung kann in einem
experimentellen Kontext erfolgen, der dem Fachmann durchaus bekannt ist. So ist
es möglich Bakterien vor dem Nachweis zunächst in einem geeigneten Medium an-
zureichern. Beim Arbeiten mit Lebensmitteln können physikalische Abtrennungs-
schritte, wie Zentrifugation der Sedimentation, eine vorteilhafte Ausführung darstel-
len. Es ist auch möglich die Bakterien so anzureichern, daß nachträglich Rück-
schlüsse auf die Ausgangskeimzahl möglich sind. Des weiteren können Grenzwert-
bestimmungen bezüglich der Keimzahl durchgeführt werden. Alles in allem ist also
ein quantitativer oder semiquantitativer Keimnachweis möglich.

Zur Isolierung genomicscher DNA werden die (angereicherten) Bakterien aufge-
schlossen. Physikalische (Glasperlen, Hitze) und chemische (NaOH) Einflüsse lie-
gen häufig den dem Fachmann bekannten Protokollen zum Zellaufschluß zugrunde.
Es ist jedoch auch möglich Zellen direkt in eine PCR zum DNA-Nachweis einzuset-
zen. Außerdem kann es vorteilhaft sein, die genomicsche DNA, insbesondere wenn
sie in Lebenmittelmatrices verteilt ist, aufzureinigen. Auch diese Verfahren sind
dem Fachmann bekannt. DNA-Reinigungskits sind zudem kommerziell erhältlich.

Tabelle 1. Nachweis von Enterobakterien unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 1)

Nr.	Arten	Stamm	Nachweis
1	<i>Budvicia aquatilis</i>	DSM 5025	+
2	<i>Buttiauxella agrestis</i>	DSM 4586	+
3	<i>Cedecea davisae</i>	DSM 4568	+
4	<i>Citrobacter koser</i>	DSM 4595	+
5	<i>Erwinia carotovora</i>	DSM 30168	+
6	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	DSM 4610	+
7	<i>Ewingella americana</i>	DSM 4580	+
8	<i>Enterobacter agglomerans</i>	B-5081-i	+
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	DSM 30053	+
10	<i>Enterobacter sakazakii</i>	DSM 4485	+
11	<i>Enterobacter intermedium</i>	DSM 4581	+
12	<i>Enterobacter cloacae</i>	DSM 30054	+
13	<i>E. coli</i>	BC 7883	+
14	<i>E. coli</i>	HI23	+
15	<i>E. coli</i>	BC 7884	+
16	<i>E. coli</i>	BC 7885	+
17	<i>E. hermanii</i>	B-4943a	+
18	<i>E. coli</i>	ATCC 8739	+
19	<i>Hafnia alvei</i>	DSM 30163	+
20	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	+
21	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DSM 2026	+
22	<i>Klebsiella planticola</i>	DSM 4617	+
23	<i>Klebsiella oxytoca</i>	DSM 5175	+
24	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	DSM 4583	+
25	<i>Morganella morganii</i>	DSM 30164	+
26	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	DSM 8224	+
27	<i>Pantoea</i> ssp.	B-5200	+
28	<i>Pantoea dispersa</i>	DSM 30073	+
29	<i>Proteus rettgeri</i>	DSM 1131	+
30	<i>Proteus rettgeri</i>	ATCC 14505	+
31	<i>Providencia stuartii</i>	DSM 4539	+
32	<i>Rahnella aquatilis</i>	DSM 4594	+
33	<i>Rahnella aquatilis</i>	DSM 4594	+
34	<i>Serratia proteamaculans</i>	DSM 4487	+
35	<i>Serratia ficaria</i>	DSM 4509	+

Tabelle 1. Nachweis von Enterobakterien unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 1) - Fortsetzung -

Nr.	Arten	Stamm	Nachweis
36	<i>Serratia plymuthica</i>	DSM 49	+
37	<i>Serratia rubidea</i>	DSM 4480	+
38	<i>Serratia marcescens</i>	DSM 1636	+
39	<i>Salmonella bongori</i>	DSM 7952	+
40	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	DSM 8992	+
41	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	DSM 8992	+
42	<i>Yersinia enterolytica</i>	DSM 4790	+
43	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	DSM 590	-
44	<i>Aeromonas hydrophila</i>	DSM 6173	-
45	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	DSM 6394	-
46	<i>Fransilla tularensis</i> Isolat	F16	-
47	<i>Franzisella philomiragia</i>	DSM 7535	-
48	<i>Moraxella catarrhalis</i>	DSM 9143	-
49	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	B-2397 A 13	-
50	<i>Pseudomonas beijerinckii</i>	DSM 7218	-
51	<i>Vibrio fischeri</i>	DSM 507	-
52	<i>Vibrio alginolyticus</i>	DSM 2171	-
53	<i>Vibrio proteolyticus</i>	DSM 30189	-
54	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	DSM 10027	-
55	<i>Vibrio harveyi</i>	DSM 6104	-
56	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	BC 4273	-
57	<i>Achromobacter xylosa</i>	DSM 2402	-
58	<i>Alcaligenes</i> spp	DSM 2625	-
59	<i>Alcaligenes latus</i>	DSM 1122	-
60	<i>Brucella neotomae</i>	ATCC 25840	-
61	<i>Brucella ovis</i>	ATCC 23459	-
62	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	DSM 20680	-
63	<i>Flavobacterium</i> sp.	ATCC 27551	-
64	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	DSM 7438	-
65	<i>Flavobacterium johnsonii</i>	DSM 2064	-
66	<i>Flavobacterium flavense</i>	DSM 1076	-
67	<i>Lactobacillus bifermentans</i>	BC 8463	-
68	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	DSM 1098	-
69	<i>Pseudomonas cepacia</i>	DSM 3134	-
70	<i>Sphingobacterium multivorans</i>	DSM 6175	-

Tabelle 2. Nachweis von *Pantoea dispersa* unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 2)

Nr.	Art	Nachweis
1	<i>Pantoea dispersa</i>	+
2	<i>Budvicia aquatica</i>	-
3	<i>Buttiauxella agrestis</i>	-
4	<i>Enterobacter agglomerans</i>	-
5	<i>Erwinia carotovora</i>	-
6	<i>Erwinia crysanthemi</i>	-
7	<i>Escherichia coli</i>	-
8	<i>Escherichia vulneris</i>	-
	<i>Escherichia hermannii</i>	-
10	<i>Hafnia alvei</i>	-
11	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
12	<i>Kluyvera cryoescens</i>	-
13	<i>Morganella morganii</i>	-
14	<i>Proteus mirabilis</i>	-
15	<i>Proteus rettgeri</i>	-
16	<i>Proteus stuartii</i>	-
17	<i>Providencia stuartii</i>	-
18	<i>Rahnella aquatilis</i>	-
19	<i>Serratia ficaria</i>	-
20	<i>Serratia fonticola</i>	-
21	<i>Serratia marcescens</i>	-
22	<i>Serratia plymuthica</i>	-
23	<i>Serratia proteamaculans</i>	-
24	<i>Serratia rubidea</i>	-
25	<i>Yersinia enterolytica</i>	-
26	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	-
27	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-
28	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	-
29	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-
30	<i>Cedecea davisae</i>	-
31	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-

Tabelle 2. Nachweis von *Pantoea dispersa* unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 2) - Fortsetzung -

Nr.	Art	Nachweis
33	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	-
34	<i>Stenotrophomonas multophila</i>	-
35	<i>Vibrio alginolyticus</i>	-
36	<i>Vibrio fisheri</i>	-
37	<i>Vibrio harveyi</i>	-
38	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
39	<i>Alcaligenes</i> sp.	-
40	<i>Bacillus subtilis</i>	-
41	<i>Brucella abortus</i>	-
42	<i>Brucella ovis</i>	-
43	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	-
44	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	-
45	<i>Pseudomonas cepacia</i>	-
46	<i>Ralstonia pickettii</i>	-
47	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	-
48	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-
49	<i>Streptococcus faecalis</i>	-

Tabelle 3: Nachweis einer Gruppe von Gattungen mit der Sonde GTTCCGAGATTGGTT

Nr.	Art	Nachweis
1	<i>Rahnella aquatilis</i>	+
2	<i>Serratia ficaria</i>	+
3	<i>Serratia fonticola</i>	+
4	<i>Serratia marcescens</i>	+
5	<i>Serratia plymuthica</i>	+
6	<i>Serratia proteamaculans</i>	+
7	<i>Serratia rubidea</i>	+
8	<i>Yersinia enterolytica</i>	+
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	+
10	<i>Budvicia aquatica</i>	-
11	<i>Buttiauxella agrestis</i>	-
12	<i>Enterobacter agglomerans</i>	-
13	<i>Erwinia carotovora</i>	-
14	<i>Erwinia cysanthemi</i>	-
15	<i>Escherichia coli</i>	-
16	<i>Escherichia vulneris</i>	-
17	<i>Escherichia hermannii</i>	-
18	<i>Hafnia alvei</i>	-
19	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
20	<i>Kluyvera cryoescens</i>	-
21	<i>Morganella morganii</i>	-
22	<i>Pantoea dispersa</i>	-
23	<i>Proteus mirabilis</i>	-
24	<i>Proteus rettgeri</i>	-
25	<i>Proteus stuartii</i>	-
26	<i>Providencia stuartii</i>	-
27	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-
28	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	-
29	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-

Tabelle 3: Nachweis einer Gruppe von Gattungen mit der Sonde GTTCCGAGATTGGTT
 - Fortsetzung -

Nr.	Art	Nachweis
30	<i>Cedecea davisae</i>	-
31	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
33	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	-
34	<i>Stenotrophomonas multophila</i>	-
35	<i>Vibrio alginolyticus</i>	-
36	<i>Vibrio fisheri</i>	-
37	<i>Vibrio harveyi</i>	-
38	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
39	<i>Alcaligenes</i> sp.	-
40	<i>Bacillus subtilis</i>	-
41	<i>Brucella abortus</i>	-
42	<i>Brucella ovis</i>	-
43	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	-
44	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	-
45	<i>Pseudomonas cepacia</i>	-
46	<i>Ralstonia pickettii</i>	-
47	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	-
48	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-
49	<i>Streptococcus faecalis</i>	-

Tabelle 4: Spezifische Sonden zum Nachweis von bakterieller Gattungen und Arten

Nr.	Sonde SEQ ID	Nachweis Gattung/Art
1	96	<i>Budvicia aquatica</i>
2	97	<i>Buttiauxella agrestis</i>
3	98	<i>Enterobacter-agglomerans</i>
4	99	<i>Erwinia carotovora</i>
5	100	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
6	101	<i>Escherichia coli</i>
7	102	<i>Escherichia hermannii</i>
	103	<i>Escherichia vulneris</i>
9	104	<i>Hafnia alvei</i>
10	105	<i>Klebsiella oxytoca</i>
11	106	<i>Kluyvera cryoescens</i>
12	107	<i>Morganella morganii</i>
13	108, 109	<i>Pantoea</i>
14	110	<i>Proteus mirabilis</i>
15	111	<i>Proteus rettgeri</i>
16	112	<i>Providencia stuartii</i>
17	113	<i>Rahnella aquatilis</i>
18	114	<i>Serratia ficaria</i>
19	115	<i>Serratia fonticola</i>
20	116	<i>Serratia marcescens</i>
21	117	<i>Serratia plymuthica</i>
22	118	<i>Serratia proteamaculans</i>
23	119	<i>Serratia rubidea</i>
24	120	<i>Yersinia enterolytica</i>
25	121	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
26	122	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
27	123	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>
28	124	<i>Aeromonas hydrophila</i>
29	125	<i>Cedecea davisae</i>
30	126	<i>Haemophilus influenzae</i>
31	127	<i>Moraxella catharralis</i>
32	128	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
33	129	<i>Stenotrophomonas multophila</i>

Tabelle 4: Spezifische Sonden zum Nachweis von bakterieller Gattungen und Arten
 - Fortsetzung 1/2 -

Nr.	Sonde SEQ ID	Nachweis Gattung/Art
34	130	<i>Vibrio alginolyticus</i>
35	131	<i>Vibrio fisheri</i>
36	132	<i>Vibrio harveyi</i>
37	133	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
38	134	<i>Vibrio proteolyticus</i>
39	432	<i>Salmonella typhi</i>
40	433	<i>Buchnera aphidocola</i>
41	434	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
42	435	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>
43	436	<i>Agrobacterium vitis</i>
44	437	<i>Adalia bipunctata</i>
45	438	<i>Amycocalatopsis orientalis</i>
46	439	<i>Brucella</i>
47	440	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
48	441	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>
49	442	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>
50	443	<i>Rickettsia prowazekii</i>
51	444	<i>Pseudomonas cepacia</i>
52	445	<i>Ralstonia pickettii</i>
53	446	<i>Campylobacter jejuni</i>
	447	<i>Helicobacter pylori</i>
55	448	<i>Actinoplanes utahensis</i>
56	449	<i>Bacillus halodurans</i>
57	450	<i>Bacillus subtilis</i>
58	451	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>
59	452	<i>Frankia</i>
60	453	<i>Microbispora bispora</i>
61	454	<i>Mycobacterium leprae</i>
62	455	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
63	456	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
64	457	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>

Tabelle 4: Spezifische Sonden zum Nachweis von bakterieller Gattungen und Arten
 - Fortsetzung 2/2 -

Nr.	Sonde SEQ ID	Nachweis Gattung/Art
65	458	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
66	459	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
67	460	<i>Rhodococcus fascians</i>
68	461	<i>Staphylococcus aureus</i>
69	462	<i>Streptococcus faecalis</i>
70	463	<i>Streptomyces ambifaciens</i>
71	464	<i>Streptomyces galbus</i>
72	465	<i>Streptomyces griseus</i>
73	466	<i>Streptomyces lividans</i>
74	467	<i>Streptomyces mashuensis</i>
75	468	<i>Flavobacterium resinovorum</i>
76	469	<i>Sphingobacterium multivorans</i>
77	470	<i>Synechococcus</i>
78	471	<i>Synechocystis</i>
79	472	<i>Borrelia burgdorferi</i>
80	473	<i>Chlamydia trachomatis</i>
81	474	<i>Azotobacter vinelandii</i>
82	475	<i>Cowdria ruminantium</i>
83	476	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
84	477	<i>Mycobacterium lufu</i>
85	478	<i>Mycobacterium simiae</i>
86	479	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
87	480	<i>Saccharomonospora azurea</i>
88	481	<i>Saccharomonospora caesia</i>
89	482	<i>Saccharomonospora cyanea</i>
90	483	<i>Saccharomonospora glauca</i>
91	484	<i>Saccharomonospora viridis</i>
92	485	<i>Wolbachia pipiensis</i>
93	525	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
94	526	<i>Zymomonas mobilis</i>
95	527	<i>Alcaligenes</i>
96	528	<i>Borrelia burgdorferi</i>
97	529	<i>Xanthomonas campestris</i>
98	530	<i>Cowdria ruminantium</i>

Tabelle 5: Primer zum Nachweis von Bakterienarten oder Gattungen

Nr.	verwendete Species	SEQ ID	vorwärts-Primer	rückwärts-Primer (rückwärts- Primer* = komplementär)
1	<i>Budvicia aquatica</i>	96	CGAGGTGTTTAAGGAAAGT	CGGTCAATAGACAGAAATT
2	<i>Buttiauxellis agrestis</i>	97	CGAAGGTGTTGGTGGAGAG	GGTTGATGAAAACAGAAATT
4	<i>Enterobacter agglomerans</i>	98	CGAAAGATGTTTGGGGATTG	GTTCCTGGCAACAGAAATT
5	<i>Erwinia carotovora</i>	99	CGAAAGGTGTTTGAGAGTGAC	TTGGGATGAAACAGAAATT
6	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	100	CGAAGGTGTTTAGAGAGATT	TGGGATGAAACAAAAATT
7	<i>Escherichia coli</i>	101	CGAAGCTGTTGGGGATGA	GTCTGTATAAAACAGAAATT
8	<i>Escherichia hermannii</i>	102	CAGAGTGGTTGGTTGGCG	CAGCAGGTGAAACAGAAATT
9	<i>Escherichia vulneris</i>	103	CGAAGATGTTTGGGGATT	CGTCAGACAGACAGAAATT
10	<i>Hafnia alvei</i>	104	CGAAGGTGTTTAAGGACGCAG	GGTACAAATAACAGAAATT
11	<i>Klebsiella oxytoca</i>	105	CGAAGATGTTGGGATTG	GTTCCTGACAAACAGAAATT
12	<i>Kluyvera cryoescens</i>	106	CAAAGATGTTGGTGAAG	CGGGTTAATAACAGAAATT
13	<i>Morganella morganii</i>	107	CGAAGGTGTTGAGTTGAGA	TTGGATTGAAATGAATT
14	<i>Pantoea dispersa</i>	108	CAGAGGGTTGGCTGAGA	GCGGTNTAAAACAAAAATT
15	<i>Pantoea</i> ssp.	109	CGAAGATGTTGGGGATG	GTTCCTGGCAACAGAAATT
16	<i>Proteus mirabilis</i>	110	CGAAAGTGTGTTGAGAG	AGTGATTAAAACCGAAATT
17	<i>Proteus rettgeri</i>	111	CGAAGGTGTTAGAGAGATA	CGGGAAACAAAACAGAAATT
18	<i>Providencia stuartii</i>	112	CGAAGGTGTTAGAGAGACG	ACGGAACGAAACCGAAATT
19	<i>Rahnella aquatilis</i>	113	CGAAGGTGTTTGATTGAG	TATGAATGAAACAGAAATT
20	<i>Salmonella typhi</i>	432	CGAAGGTGTTGGAGGATAA	GATAAAAGAAAACAGAAATT

Tabelle 5: Primer zum Nachweis von Bakterienarten oder Gattungen
 - Fortsetzung -

Nr.	verwendete Spezies	SEQ ID	vorwärts-Primer	rückwärts-Primer (rückwärts-Primer* = komplementär)
21	<i>Serratia</i> <i>ficaria</i>	114	CGAAGGTGTTTAGAGAGACG	CAAGAATGAAACAGAATT
22	<i>Serratia</i> <i>fonticola</i>	115	CCAAGGTGTTTGAAGAGATT	TTGAAATGAAACAGAATT
23	<i>Serratia</i> <i>marcescens</i>	116	CGAAGGTGTTTAGAGAGAT	TTGGAATGAAACAGAATT
24	<i>Serratia</i> <i>plymuthica</i>	117	CGAAGGTGTTTAGAGAGATT	TTGGAATGAAACAGAATT
25	<i>Serratia</i> <i>proteamaculans</i>	118	CAAAGGTGTTTAGAGAGATT	TTGGAATGAAACANAATT
26	<i>Serratia</i> <i>rubidea</i>	119	CGAAGGTGTTTAGAGAGATT	TCGGGATGAAACAGAATT
27	<i>Yersinia</i> <i>enterolytica</i>	120	CAAAGGTGTTTGTATTGTAGG	GTTAGTTAGACAGAATT
28	<i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus</i>	122	CCAAAGCAGTTGTTATAAAC	GCAACCAATAAGACCAATG
29	<i>Aeromonas</i> <i>enteropelogenes</i>	123	CCAAGAAAGTGTNTGGTGC	TTTCCAAGATTGAAAGAATT
30	<i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i>	124	CCAAGAAAGTGTCTAAGGCT	TTCTCAGATTTGAAGAATT
31	<i>Buchnera</i> <i>aphidicola</i>	433	CCAGAGGTGTTTATAAAA	ATCTGTGTTTACTGAATT
32	<i>Haemophilus</i> <i>influenzae</i>	126	GCTCAAGTGTGTTGGAGCT	CGGTCAGTAAACAGAATT
33	<i>Moraxella</i> <i>catarrhalis</i>	127	ACCCAAAGTGGTTACCACTGA	GTAATAAACAGACTAC
34	<i>Pasteurella</i> <i>pneumotropica</i>	128	ACCAAATTGTTATCGTAAC	AGTTGTTTATAATAAACAT
35	<i>Vibrio</i> <i>alginolyticus</i>	130	CCAAAGGGTTTGTATGGACTC	TTTCCAGATTAAGAATT
36	<i>Vibrio</i> <i>fisheri</i>	131	CCAAGTGGTTTGTATCAAGCA	TTAAGTAAAACAAACAG
37	<i>Vibrio</i> <i>harveyi</i>	132	CCAAGGGTTTGTATGGACTC	TTTCCAAATTAAAGAATT
38	<i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	133	CCAAGGGTTTGTATGGACTC	TTTCCGAATTAAAGAATT
39	<i>Vibrio</i> <i>proteolyticus</i>	134	CCAAGGGTTTGTATGGACTC	TTGTTCCAGACAAAATT

Tabelle 6: Nachweispotentiale und Spezifikation der Lokalisation von DNA-Fragmenten aus dem rDNA-Operon

Nr. in Abb. 2	DNA-Bereich	Position in SEQ ID 1	Nachweispotentiale
1.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2667-2720	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
2.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2727-2776	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
3.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2777-2800	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
4.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2801-2838	Klassen, Ordnungen, Familien
5.	Ende des 23 S rDNA-Gens	2857-2896	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
6.	Beginn des 23 S-5 S transkribierten Spacers	2897-2938	Ordnungen, Familien, Gattungen, Arten, Stämme
7.	23 S-5 S transkribierter Spacer	2939-2983	Gattungen, Arten, Stämme
8.	Ende des 23 S-5 S transkribierten Spacers	2984-2999	Familien, Gattungen, Arten, Stämme
9.	Beginn des 5 S rDNA-Gens	3000-3032	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien

Tabelle 7: Primer aus Beispiel 1

vorwärts-Primer	rückwärts-Primer	Annealing-temperatur (°C)	Abbildung
SEQ ID 2	SEQ ID 7-22	62	3
SEQ ID 2	SEQ ID 23-24	62	4
SEQ ID 2	SEQ ID 25	67	5
SEQ ID 3-6	SEQ ID 23-24	62	6
SEQ ID 3-6	SEQ ID 25	67	7

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
1	Enterobakterien	1	7-22							4	5
2	Enterobakterien	26	34	42	54	66	78	85			135
3	Acinetobacter	27	35	43	55	67	79				
4	Aeromonas	28	36	44	56	68	80	87			155
5	Haemophilus	29	37	45	57	69	81				
6	Moraxella	30	38	46	58	70	82				
7	Pasteurella	31	39	47	59						
8	Stenotrophomonas	32	40	48	60	72					
9	Vibrio	33	41								
10	Vibrio alginolyticus			49	61	73					160
11	Vibrio fisheri			50	62	74					161
12	Vibrio harveyi			51	63	75					162
13	Vibrio parahaemolyticus			52	64	76					163
14	Vibrio proteolyticus			53	65	77					163
15	Pasteurella pneumotropica				71	83					158
16	Acinetobacter calcoaceticus							86	122		154
17	Haemophilus influenzae							88	126		156
18	Moraxella catarrhalis							89	127		157
19	Budvicia aquatica								96		135
20	Buttiauxella agrestis								97		136

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien
 - Fortsetzung 1/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
21	<i>Enterobacter agglomerans</i>		188	168				98			
22	<i>Erwinia carotovora</i>		189	169				99			
23	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	190	170					100		138	
24	<i>Escherichia coli</i>	187	171					101		139	
25	<i>Escherichia hermannii</i>	191	172					102		140	
26	<i>Escherichia vulneris</i>	192	173					103, 165		141	
27	<i>Hafnia alvei</i>	193	174					104		142	
28	<i>Klebsiella oxytoca</i>	187	175					105, 165		143	
29	<i>Kluyvera cryoescens</i>	187	175					106		144	
30	<i>Morganella morganii</i>	194	176					107		145	
31	<i>Pantoea dispersa</i>	187	177					108, 165		146	
32	<i>Pantoea</i>	188	178					109, 165		147	
33	<i>Proteus mirabilis</i>	195	179					110			
34	<i>Proteus rettgeri</i>	196	180					111		148	
35	<i>Providencia stuartii</i>	197	181					112		149	
36	<i>Rahnella aquatilis</i>	198	182					113, 164		149	
37	<i>Serratia ficaria</i>							114, 164		150	

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien
- Fortsetzung 2/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
38	<i>Serratia fonticola</i>								115, 164		
39	<i>Serratia marcescens</i>								116, 164		
40	<i>Serratia plymuthica</i>								117, 164		
41	<i>Serratia proteamaculans</i>								118, 164		
42	<i>Serratia rubidea</i>								119, 164		
43	<i>Yersinia enterolytica</i>	199	184						120, 164	152	
44	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	200	185						121, 164	153	
45	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>								123		
46	<i>Aeromonas hydrophila</i>								124		
47	<i>Cedecea davisaee</i>	201	186						125		
48	<i>Stenotrophomonas multiformis</i>								129	159	
49	<i>Enterobacter agglomerans</i>								137, 165		
50	<i>Serratia</i>					183				151	
51	<i>Citrobacter</i>								202, 203		
52	<i>Salmonella</i>								204-210		
53	<i>Pseudomonas</i> <i>stutzeri</i>	213	252	289	326	361	403		434	488	

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien
- Fortsetzung 3/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
54	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	214	253	290	327	362	404		435		489
55	<i>Agrobacterium vitis</i>	215	254	291	328	363			436		490
56	<i>Adalia bipunctata</i>	216	255	292	329	364			437		491
57	<i>Amycolatopsis orientalis</i>	217	256	293	330				438		
58	<i>Brucella ovis</i>	218	257	294	331	365			439		492
59	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	219	258	295	331	366			440		493
60	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	220	259	296	332	367			441		494
61	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	221	260	297	333	368			442		495
62	<i>Rickettsia prowazekii</i>	222	261	298	333	369			443		496
63	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	223	262	299	334	370	405		525		499
64	<i>Zymomonas mobilis</i>	224	263	300	335	371			526		500
65	<i>Alcaligenes</i>	225	264	301	336	372	406		527		501
66	<i>Pseudomonas cepacia</i>	226	265	302	337		407		444		502
67	<i>Ralstonia pickettii</i>	227	266	303	338	373	408		445		503
68	<i>Campylobacter jejuni</i>	228	267	304	339	374	409		446		
69	<i>Helicobacter pylori</i>	229	268	305	340	375	410		447		504
70	<i>Actinoplanes utahensis</i>	230	269	306	341		411		448		

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien
- Fortsetzung 4/6

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
71	<i>Bacillus halodurans</i>	231	270	307	342	376	412		449		505
72	<i>Bacillus subtilis</i>	232		343	377	413		450			506
73	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	233	271	308	344	378	414		451		507
74	<i>Frankia</i>	234	272	309	345	379	415		452		508
75	<i>Microbispora bispora</i>	235	273	310	346	380	416		453		509
76	<i>Mycobacterium leprae</i>	236	274	311	347	381	417		454		510
77	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	237	275	312	348	382	418		455		511
78	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	238	276	313	349	383	419		456		512
79	<i>Mycobacterium gallisepticum</i>	239	277	314		384	420		457		
80	<i>Propionibacterium freudenreich</i>	240	278	315	350	385	421		458		
81	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	241	279	316	351	386	422		459		513
82	<i>Rhodococcus fascians</i>	242			387	423			460		514
83	<i>Staphylococcus aureus</i>	243	280	317	352	388	424		461		515
84	<i>Streptococcus faecalis</i>	244	281	318	353	389	425		462		516
85	<i>Streptomyces ambofaciens</i>	245	282	319	354	390	426		463		517
86	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	246	283	320	355	395	428		468		519
87	<i>Sphaerotilus multivorans</i>	247	284	321	356	396			469		520

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien
- Fortsetzung 5/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
88	<i>Synechococcus</i>	248	285	322	357	397	429		470		521
89	<i>Synechocystis</i>	249	286	323	358	398	430		471		522
90	<i>Borrelia burgdorferi</i>	250	287	324	359	399			472, 428		523
91	<i>Chlamydia trachomatis</i>	251	288	325	360	400	431		473		524
92	<i>Streptomyces galbus</i>					391	426		464		
93	<i>Streptomyces griseus</i>					392	426		465		518
94	<i>Streptomyces lividans</i>					393	426		466		518
95	<i>Streptomyces mashuensis</i>					394	427		467		
96	<i>Salmonella typhi</i>					401			432		486
97	<i>Buchnera aphidocola</i>								433		487
98	<i>Brucella orientalis</i>								439		492
99	<i>Brucella abortus</i>								439		492
100	<i>Azotobacter vinelandii</i>								474		
101	<i>Cowduri a ruminantium</i>								475, 530		
102	<i>Mycobacterium intracellulare</i>								476		
103	<i>Mycobacterium lufu</i>								477		
104	<i>Mycobacterium simiae</i>								478		

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien
- Fortsetzung 6/6 -

SEQUENZPROTOKOLL

<110> BioteCon Diagnostics

<120> Nukleinsäuremoleküle zum Nachweis von Bakterien und phylogenetischen Einheiten von Bakterien

<130> P30882

<140> 1

<141> 1999-08-15

<160> 530

-----<170> PatentIn Ver.---2.1-----

<210> 1

<211> 3118

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 1

gtttaagcga ctaagcgtac acgggtggatg ccctggcagt cagaggcgat gaaggacgtg 60
 ctaatctcgataaagcgtcg gtaagggtat atgaaccgtt ataaaccggcg atttccgaat 120
 gggaaaccc agtgtgtttc gacacactat cattaactga atccataggt taatgaggcg 180
 aaccggggga actgaaacat ctaagtaccc cgaggaaaag aaatcaaccg agattcccc 240
 agtagccgca agcgaacggg gaggcggccca gaggctgaat cagtgtgtg gtttagtgaa 300
 gcgtctggaa aggctgtcgat tacagggtga cagccccgtt cacaatgtg cacatgtgt 360
 gagctcgatg agtagggcgg gacacgtgtt atccctgtctg aatatgggg gaccatcctc 420
 caaggctaaa tactcctgac tgaccgatag tgaaccagta ccgtgaggga aaggcgaaaa 480
 gaaccggc gaggggagtg aaaaagaacc tgaaccgtg tacgtacaag cagtgggagc 540
 acgcttaggc gtgtgactgc gtacctttt tataatgggt cagcgactta tattctgttag 600
 caaggtaac cgaatagggg agccgaaggg aaaccgagtc ttaactgggc gttaagtgtc 660
 agggatatacc cccgaaaccc ggtgatctag ccatggggcag gttgaagggtt gggtaacact 720
 aactggagga ccgaaccgac taatgttga aatttagcgg atgacttgtg gctgggggtg 780
 aaaggccaaat caaaccggga gatactgtt tctcccccga agctatttg gtagcgctc 840
 gtgaattcat ctccgggggtt agagcactgt ttcggcaagg gggtcatccc gacttaccaa 900
 cccgatgcaaa actgcgaata ccggagaatg ttatcacggg agacacacgg cgggtgtcaa 960
 cgtccgtcgtt gaagaggggaa acaaccaga ccgcccagcta aggtcccaaa gtcatggta 1020
 agtggaaac gatgtggaa gcccagaca gccaggatgt tggcttagaa gcagccatca 1080
 tttaaagaaa gctaatatgc tcactggtcg agtcggccctg cgccgaagat gtaacggggc 1140
 taaaccatgc accgaagctg cggcagcgcac actatgtgtt gttgggttagg ggagcgttct 1200
 gtaagcctgtt gaaggtgtc tttgaggcat gctggaggta tcagaatgtc gaatgtgtac 1260
 ataagtaacg ataaagcggg tgaaaagccc gtcggccga agacaaggg ttccgttcca 1320
 acgttaatcg gggcagggtt agtcgaccctt taaggcgagg ccgaaaggcg tagtcgtatgg 1380
 gaaacaggtt aatattcctg tacttgggtt tacttgcgaag gggggacggaa gaaggctatg 1440
 ttggccgggc gacgggtgtc ccgggtttaag cgtttaggtt gttttccag gcaaatccgg 1500
 aaaatcaagg ctgaggcgtt atgacgaggg actacgggtc tgaagcaaca aatgcccgtc 1560
 ttccagaaaa agcccttaag catcaggtaa catcaaatcg taccggaaac cgacacaggt 1620
 ggtcaggtag agaataccaa ggcgtttag gagaactcggg tgaaggaact aggcaaaaatg 1680
 gtgccgtaac ttccggagaa ggcacgtga tatgttaggt aagcgacttg ctcgtggagc 1740
 taaaatcagt cgaagataacc agctggctgc aactgtttat taaaacacaca gcactgtgca 1800
 aacacgaaatg tgacgtata cgggtgtacg cctgcccgtt gcccgaaggt taattgtatgg 1860
 gtttagccgc aaggcgaaatc tcttgcgtca agcccccgtt aacggcggcc gtaactataa 1920
 cggtcctaag gtacgttccat tccttgcgtt gtaagttccg acctgcacga atggcgtat 1980
 gatggccagg ctgtctccac ccggactca gtgaaattgtt actcgctgtt aagatgcagt 2040
 gtaccccggtt caagacggaa agacccgtt aacctttact atacgttgc actgaacatt 2100
 gaggccttgcgtt gtttaggtt ggtggggaggc tttgaagttt ggacgcgtt ctcgtggag 2160
 ccgacccgtt gatgttccat ttatgtttt gatgttccat cgttgcgtt taatccgggt 2220
 tggcgttccat gtttaggtt gtttaggtt gggggcgtt ctcgttccat agtaacggag 2280
 gagcacaatc gtttaggtt ctcgttccat cgttgcgtt taatccgggt ggcataagcc 2340
 agcttgcgtt ctcgttccat cgttgcgtt ggtgcgtt ctcgttccat tgatccgggt 2400
 gttctgtat gtttaggtt ctcgttccat cgttgcgtt aaaaaggta ctccggggat aacaggcgtt 2460

taccgccccaa gagttcatat cgacggcggt gtttggcacc tcgatgtcgg ctcatcacat 2520
 cctggggctg aagtaggtcc caagggtatg gctgttcgcc atttaaagtg gtacgcgagc 2580
 tgggttaga acgtcgttag acagttcggt ccctatctgc cgtggcgct ggagaactga 2640
 ggggggctgc tcctagtagc agaggaccgg agtggacgca tcactgggtg tcgggttgc 2700
 atgccaatgg cactgcccgg; tagctaatg csgaagagat aagtgtgaa agcatctaag 2760
 cacgaaactt; gcccggagat gagttctccc tgactcctt agagtctga aggaacgtt 2820
 aagacgacga cgttgatagg ccgggtgtgt aagcgcagcg atgcgttgag ctaaccggta 2880
 ctaatgaacc gtgaggctt accttataaac gccgaagggt ttttggcgga ttgagagaag 2940
 atttcagcc tgatacagat taaatcagaa cgcagaagcg gtgtgataaa acagaattt 3000
 cctggcgca gtagcgcggg ggtccacct gaccccatgc cgaactcaga agtcaaacgc 3060
 cgtagcgccg atggtatgtt ggggtctcct catgcgagag taggaaactg ccaggcat 3118

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Gattungen der Enterobakterien

<400> 2

ttcgggtgt catgccaatg

20

<210> 3

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Gattungen der Enterobakterien

<400> 3

ctgaaagcat ctaagcgcga aacttg

26

<210> 4

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Gattungen der Enterobakterien

<400> 4

ctgaaagcat ctaagcggga aacttg

26

<210> 5

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Gattungen der Enterobakterien

<400> 5

ctgaaagcat ctaagcacga aacttg.

26

<210> 6
<211> 26
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 6
ctgaaagcat ctaaggcagg aacttg

26

<210> 7
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 7
gggaggactc atctcgaggc aagtt

25

<210> 8
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 8
gggaggactc atctcggggc aagtt

25

<210> 9
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 9
gggaggactc atctcaaggc aagtt

25

<210> 10
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 10
gggaggactc atctcagggc aagtt

25

<210> 11
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 11
gggaggactc atcttgaggc aagtt

25

<210> 12
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 12
gggaggactc atcttgggc aagtt

25

<210> 13
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 13
gggaggactc atcttaaggc aagtt

25

<210> 14
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 14
gggaggactc atcttagggc aagtt

25

<210> 15
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet

von Gattungen der Enterobakterien

<400> 15
gggagaactc atctcgaggc aagtt 25

<210> 16
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 16
gggagaactc atctcggggc aagtt 25

<210> 17
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 17
gggagaactc atctcaaggc aagtt 25

<210> 18
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 18
gggagaactc atctcagggc aagtt 25

<210> 19
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 19
gggagaactc atcttgaggc aagtt 25

<210> 20
<211> 25
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 20
 gggagaactc atcttggggc aagtt

25

<210> 21
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 21
 gggagaactc atcttaaggc aagtt

25

<210> 22
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 22
 gggagaactc atcttagggc aagtt

25

<210> 23
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 23
 ccgccaggca aattcggt

18

<210> 24
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 24
 tcaggtggga ccaccgca

17

<210> 25
 <211> 18
 <212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Gattungen der Enterobakterien

<400> 25

ccggccaggca aattctgt

18

<210> 26

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Arten der Gattung Enterobakterien

<400> 26

ccggaggtgga cgcaccactg gtgttcgggt tgtcatgcca atggcattgc ccgg

54

<210> 27

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 27

ccagagtgaa cgaacctctg gtgtaccgggt tgtgacgcca gtcgcattgc ccgg

54

<210> 28

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 28

ccggagtgaa cgaacctctg gtgttcgggt tgtcacgcca gtggcattgc ccgg

54

<210> 29

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 29

ccggagtgaa cgcattactg gtgtccgggt tgtgtcgcca gacgcattgc ccgg

54

<210> 30

<211> 54
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 30
 ccggagtgga cgcacactg gtgtccgggt tgtgtcgcca gacgcattgc cggg 54

<210> 31
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von von Arten der Gattung Pasteurella

<400> 31
 ccggggatgga cacaccgctg gtgtaccagt tttctgcca agagcatcgc tggg 54

<210> 32
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 abgeleitetet von Arten der
 Gattung Stenotrophomonas

<400> 32
 ccggagtgga cgaacctctg gtgtaccgggt tgtcacgcca gtggcattgc cggg 54

<210> 33
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 abgeleitetet von Arten der Gattungt Vibrio

<400> 33
 ccggagtgga cgaacctctg gtgtccgggt tgtgtcgcca gacgcattgc cggg 54

<210> 34
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 34
 gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttgcctc g 41

<210> 35
<211> 41
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung *Acinetobacter*

<400> 35
gggataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctacctc a

41

<210> 36
<211> 41
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung *Aeromonas*

<400> 36
tcgataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcgagccct g

41

<210> 37
<211> 41
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung *Haemophilus*

<400> 37
gagataagtg ctgaaagcat ctaagcacga aacttgccaa g

41

<210> 38
<211> 42
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung *Moraxella*

<400> 38
gggataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agccccacctt aa

42

<210> 39
<211> 42
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung *Pasteurella*

<400> 39
 gggataaagt ctgaaagcat ctaagcacga agcccccc tc aa 42

<210> 40
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 abgeleitetet von Arten der Gattung
 Stenotrophomonas

<400> 40
 gagataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttgcctt ga 42

<210> 41
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 abgeleitetet von Arten der Gattung Vibrio

<400> 41
 tcgataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcgagcctt ga 42

<210> 42
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 42
 agatgagtct tccctgggcc ttta 24

<210> 43
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 43
 agataagatt tccctaggac ttta 24

<210> 44
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 44
agatgagtca tccctgaccc ct tg

24

<210> 45
<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 45
agatgagtca tccctgactt t

21

<210> 46
<211> 13
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 46
agataagatt tcc

13

<210> 47
<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
von von Arten der Gattung Pasteurella

<400> 47
agatgagatt tcccattacg c

21

<210> 48
<211> 23
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
abgeleitetet von Arten der Gattung
Stenotrophomonas

<400> 48
agatgagatt tcccggagcc ttg

23

<210> 49
<211> 24
<212> DNA

<213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 49

agatgagttc tccctgatac ttta

24

<210> 50

<211> 13

<212> DNA

<213> *Vibrio fisheri*

<400> 50

agattagatt tcc

13

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> *Vibrio harbeyi*

<400> 51

agatgagttc tccctggcc ttta

24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> *Vibrio parahaemolyticus*

<400> 52

agatgagttc tccctgatac ttta

24

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> *Vibrio proteolyticus*

<400> 53

agatgagttc tccctggcac ttta

24

<210> 54

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> ~~Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von Gattungen der Enterobakterien~~

<400> 54

agggtcctga agggacgttg aagactacga cg

32

<210> 55

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> ~~Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet von von Arten der Gattung Acinetobacter~~

<400> 55
 tgcctctaa agagccgttc gagacttagga cg 32

<210> 56
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
 von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 56
 tgcctctaa agagccgttc gagacttagga cg 32

<210> 57
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
 von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 57
 aagtcagtaa gggttgttgt agactacgac g 31

<210> 58
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
 von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 58
 ctaaagagcc gttgttagacg acgacg 26

<210> 59
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
 von von Arten der Gattung Pasteurella

<400> 59
 aagtaagtaa gatccctcaa agacgatgag g 31

<210> 60
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
abgeleitetet von Arten der Gattung
Stenotrophomonas

<400> 60
agctccttga agggtcggtc gagaccagga cg

32

<210> 61
<211> 32
<212> DNA
<213> Vibrio alginolyticus

<400> 61
agtatcctaa agggttgcgt tagmtacgac gt

32

<210> 62
<211> 27
<212> DNA
<213> Vibrio fisheri

<400> 62
ctaaagagcc gttcaagact aggacgt

27

<210> 63
<211> 33
<212> DNA
<213> Vibrio harbeyi

<400> 63
agtatcctaa agggttgcgt tagmtacgac gt

33

<210> 64
<211> 33
<212> DNA
<213> Vibrio parahaemolyticus

<400> 64
agtatcctaa agggttgcgt tagmtacgac gt

33

<210> 65
<211> 33
<212> DNA
<213> Vibrio proteolyticus

<400> 65
agtgtccttga agggttgcgt tagmtacgac gt

33

<210> 66
<211> 40
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 66

agcgatgcgt tgagctaacc agtactaatg acccgtgagg 40
 <210> 67
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von von Arten der Gattung Acinetobacter
 <400> 67
 agtgatgtgtaacc aatactaatt gctcgtgagg 40

<210> 68
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von von Arten der Gattung Aeromonas
 <400> 68
 ggcgacgtgt tgagctaacc catactaatt acccgtgagg 40

<210> 69
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von von Arten der Gattung Haemophilus
 <400> 69
 tgtgagtcat tgagctaacc aatactaatt gccc gagagg 40

<210> 70
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> ~~Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von von Arten der Gattung Moraxella~~

<400> 70
 agtatacat gtagctaacc aatactaatt gctcggttgg 40

<210> 71
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Pasteurella pneumotropica
 <400> 71
 tggcgacacg tgcagctgac gaatactaatt cgatcgagga cttaacc 47

<210> 72		
<211> 40		
<212> DNA		
<213> Künstliche Sequenz		
<220>		
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:		
abgeleitetet von Arten der Gattung		
Stenotrophomonas		
<400> 72		
agtataatgcattaaacc agtactaatt gccccgtacgg		40
<hr/>		
<210> 73		
<211> 40		
<212> DNA		
<213> Vibrio alginolyticus		
<400> 73		
tgtgaggcgt tgagcttaacc tgtactaatt gccccgtgagg		40
<210> 74		
<211> 40		
<212> DNA		
<213> Vibrio fisheri		
<400> 74		
agtgtatgcgt gtagcttaacc tgtactaatt gctcggttgg		40
<210> 75		
<211> 40		
<212> DNA		
<213> Vibrio harveyi		
<400> 75		
tgtgaggcgt tgagcttaacc tgtactaatt gccccgtgagg		40
<210> 76		
<211> 40		
<212> DNA		
<213> Vibrio paramaemolyticus		
<400> 76		
tgtgaggcgt tgagcttaacc tgtactaatt gccccgtgagg		40
<hr/>		
<210> 77		
<211> 40		
<212> DNA		
<213> Vibrio proteolyticus		
<400> 77		
tgtgaggcgt tgagcttaacc tgtactaatt gccccgtgagg		40
<210> 78		
<211> 30		
<212> DNA		

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 78

acccgtgagg cttaacctta caacaccgaa

30

<210> 79

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 79

gctcgtgagg ct tgactata caacacccaa

30

<210> 80

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 80

acccgtgagg cttaaccata caacacccaa

30

<210> 81

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 81

gccc gagagg cttaactata caacgctcaa

30

<210> 82

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet
von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 82

gctcgagg ct tgaccata caacacccaa

30

<210> 83

<211> 33
 <212> DNA
 <213> *Pasteurella pneumotropica*

<400> 83
 gctgacgaat actaatcgat cgaggactta acc

33

<210> 84
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Stenotrophomonas*

<400> 84
 gcccgtacgg cttgtcccta taaccttggt

30

<210> 85
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 85
 caacacccaa ggtgttttgg aggaatc

27

<210> 86
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> *Acinetobacter calcoaceticus*

<400> 86
 caacacccaa gcagttgtat ataaaagc

27

<210> 87
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von von Arten der Gattung *Aeromonas*

<400> 87
 caacacccaa gaagtgttct aaggctt

27

<210> 88
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 88
 caacgctcaa gtgttttgg gagctaa

27

<210> 89
<211> 27
<212> DNA
<213> *Moraxella catarrhalis*

<400> 89
caacacccaa gtggtttacc actgact

27

<210> 90
<211> 27
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
abgeleitetet von Arten der Gattung
Stenotrophomonas

<400> 90
taaccttgggt agtccaagggt cgagttac

27

<210> 91
<211> 27
<212> DNA
<213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 91
caacacccaa ggggttttga tggactc

27

<210> 92
<211> 27
<212> DNA
<213> *Vibrio fisheri*

<400> 92
caacacccaa gtggtttggta tcaagca

27

<210> 93
<211> 27
<212> DNA
<213> *Vibrio harveyi*

<400> 93
caacacccaa ggggttttga tggactc

27

<210> 94
<211> 27
<212> DNA
<213> *Vibrio parahaemolyticus*

<400> 94
caacacccaa ggggttttga tggactc

27

<210> 95
<211> 36

<212> DNA
 <213> *Vibrio proteolyticus*
 <400> 95
 caacacccaa ggggtttga tggactcaat gaaaga 36

<210> 96
 <211> 118
 <212> DNA
 <213> *Budvicia aquatica*
 <400> 96
 caacatccga ggtgtttaa ggaaagttga agagacgaaa gaataagtag aattccagct 60
tgaaccgaga ttgagttgtat ggttgtgtga atgacacgac ggtcaataga cagaatat 118

<210> 97
 <211> 111
 <212> DNA
 <213> *Buttiauxella agrestis*
 <400> 97
 caacaccgaa ggtgtttgg ttgagagact aagatattga attttcagct tgaaccgaga 60
tttaagtgc atggttgtgt gaacagcatg acgggtgtatg aaacagaata t 111

<210> 98
 <211> 193
 <212> DNA
 <213> *Enterobacter agglomerans*
 <400> 98
 caacgcccga gatgttttgg cggattgaga agatttcag cattgattac agatttcgg 60
 gaacgaaaga tttacgctg aggcaaggcg gcaaatgaag taaaggaaagg agcatacatg 120
 agtatgtgac tgactttgcg aatgcagcca acgcagccac agtggaaaag attcgttct 180
 ggcaacagaa ttt 193

<210> 99
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> *Erwinia carotovora*
 <400> 99
 caacaccgaa ggtgtttga gagtgactca aagagatgtt gataatcagc ttgttttagg 60
 atgggtctg atggttatgc gagagcgaaa gcaagcatg acgggtggaa taaaacagaa 120
 ttt 123

<210> 100
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> *Erwinia chrysanthemi*
 <400> 100
 caacaccgaa ggtgttttag agagattgggt ttgaattttc agtgaagttc cgagattgggt 60
 tctgatggct acggagtagc ggtcgggatg aaacaaaatt t 101

<210> 101
 <211> 92
 <212> DNA

<213> *Escherichia coli*

<400> 101
 caacgccgaa gctgtttgg cggatgagag aagatttca gcctgataca gattaaatca 60
 gaacgcagaa gcggctgtat aaaacagaat tt 92

<210> 102

<211> 104

<212> DNA

<213> *Escherichia hermannii*

<400> 102

caacgccaga gtgggtttgg tggcggtg tgagagacga tttcagctt gaccggatag 60
 acatctgtgg cggcgccgca gcacgcagca ggtgaacaga attt 104

<210> 103

<211> 92

<212> DNA

<213> *Escherichia vulneris*

<400> 103

caacgccgaa gatgtttgg cggatggaa agacgattt cagctgatac agattaagtc 60
 tgccgcctga cggcgtcaga cagacagaat tt 92

<210> 104

<211> 119

<212> DNA

<213> *Hafnia alvei*

<400> 104

caacaccgaa ggtgttttaa gacgcagaga cgcggaaaca caaagagtaa gcttggtaa 60
 cagattgggt tttatggcta gctgttagaaa tacagaaagc ggtacaaaata acagaatat 119

<210> 105

<211> 195

<212> DNA

<213> *Klebsiella oxytoca*

<400> 105

cggcgaagat gtttggcga tttgagaaga caacaatttc agcattgatt acagatttc 60
 gggaaacaaa gattttacgc tgaggcaagg cggcaaatga aggaaaggaa ggagcatact 120
 gaagtatgtg actgacttta cgaatgcagc caacgcagca tcgggtaaa agattcggtt 180
 ctgacaacag aattt 195

<210> 106

<211> 90

<212> DNA

<213> *Kluyvera cryoescens*

<400> 106

cggccaaatgttggtaa aaagagacat caataatcag cttgatacag ataaatataac 60
 tggccgaaatgcgggttaat aacagaat 90

<210> 107

<211> 105

<212> DNA

<213> *Morganella morganii*

<400> 107
 caccgaaggt gtttgagtt gagagacgt taaagagatt tttcagcaca gtgaagaggc 60
 agaagtcat cactgtgaaa gcttatttg gattgaaatg aattt 105

<210> 108
 <211> 192
 <212> DNA
 <213> *Pantoea dispersa*

<400> 108
 cgcgcaggc gtttggtct gagagaccna aagaatttc agcattgttc accggattac 60
 ntccagtggc tttgtgctg tgacaaggcg gcacgcgaga cgacgggaag gagcatacac 120
 gatgtatgtga ctgagcggcg cgagcggggc aacgcgtca gagcgcaaaa gacgcggnt 180
 aaaacaaaaat tt 192

<210> 109
 <211> 190
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Pantoea*

<400> 109
 cgcgcaggc gtttggtct aatgagaaga ttttcagcat tgattacaga ttttcgggaa 60
 cggaaaggatt tacgctgagg caaggcggca aatgaagtaa aggaaggagc atacatgagt 120
 atgtgactga ctttkcggat gcagccaacg cagccacagt gaaaaagatt cgtttctggc 180
 aacagaattt 190

<210> 110
 <211> 111
 <212> DNA
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 110
 caacaccgaa agtgtttgt cagagagacg aaacgatgaa gtcagctgt tcaanattga 60
 attactggcg acttaccgaa aggaaagaag cgagtgatta aaaccgaatt t 111

<210> 111
 <211> 139
 <212> DNA
 <213> *Proteus rettgeri*

<400> 111
 caacaccgaa ggtgttttag agagatagag ttgtttcaa gaaagagtga gaagccaaaa 60
 ggtgaaggac acgcagctt tttgagattt aggttctgg ttagtgaaga aaaaactaaa 120
 cgggaacaaa acagaattt 139

<210> 112
 <211> 137
 <212> DNA
 <213> *Providencia stuartii*

<400> 112
 caacaccgaa ggtgttttag agagacgaag agacgaattt ttgaagcgca cgagatagag 60
 tggtgcgaaa aaatcagctt gttcaagatt gcagttctgg tttgcgggt agacgcgaac 120

gggaacgaac cgaattt

137

<210> 113
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> *Rahnella aquatilis*

<400> 113
 caacaccgaa ggtgttttg attttagaga cagactcgag agagtagatt ttcagcgaaat 60
 tggccggta ttgggtcgta tggcgccgtg tgatgagaaa ttatgacacg acgcggatg 120
 aatgaaacag aattt 135

<210> 114
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> *Serratia ficaria*

<400> 114
 caacaccgaa ggtgttttag agagacgaat aatttcagc gaagttctt gattggttct 60
 ggtggttacg cgagtaacgg ccaagaatga aacagaattt 100

<210> 115
 <211> 106
 <212> DNA
 <213> *Serratia fonticola*

<400> 115
 caacacccaa ggtgttttga agagattgaa gtagatttc agcgaagttc cgagatttgt 60
 ttcaatggcg acacgagagt gaagcggttg aatgaaaca gaattt 106

<210> 116
 <211> 97
 <212> DNA
 <213> *Serratia marcescens*

<400> 116
 caacaccgaa ggtgtttta gagagatttt cagcgaagtt ccgagattgg ttctgatggc 60
 gacacgaaag tgaagcgggtt ggaatgaaac agaattt 97

<210> 117
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> *Serratia plymuthica*

<400> 117
 caacaccgaa ggtgttttag agagattaca gtagatttc agcgacgttc cgagatttgt 60
 ttcaatggcc caaaaggcg ttggaaatgaa acagaattt 99

<210> 118
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> *Serratia proteamaculans*

<400> 118
 caacacccaa ggtgttttag agagattgta gagatttca gcgagttccg agattggttt 60
 caatggctgc gagatcgatcg gttggaaatga aacanaattt 100

<210> 119

<211> 101

<212> DNA

<213> *Serratia rubidea*

<400> 119

caacacccaa ggtgttttag agagattggc ttgaattttc agtgaagttc cgagattggc 60
tctgatggct acggagtagc ggtcgggatg aaacagaatt t 101

<210> 120

<211> 116

<212> DNA

<213> *Yersinia enterolytica*

<400> 120

caacacccaaa ggtgttttgt atttgagaga tagatattga ttttcagcga atgttccgag 60
attgggctgg ctggctgtgt gaaagattgc atagcggggtt agtttagaca gaattt 116

<210> 121

<211> 104

<212> DNA

<213> *Yersinia pseudotuberculosis*

<400> 121

caacacccaa gtcttgaatt gagagagatt ttcagcgtcg ttccgagatt ggattgactg 60
gcgtcacaag cgctgtttgt gtgcgggtt attaaaacag attt 104

<210> 122

<211> 179

<212> DNA

<213> *Acinetobacter calcoaceticus*

<400> 122

caacacccaa gcagttgtat ataaagcatc aatcgattca ttaatatgca aagcaacttg 60
attttagttt acgttagct aaaatgaaca aatatagta agactcaatc agcccatctg 120
taaagatttgc gaaaacgcattt cggcaaccaa taagaccaat gcaagtatcc ataccagt 179

<210> 123

<211> 118

<212> DNA

<213> *Aeromonas enteropelogenes*

<400> 123

caacacccaa gaagtgtttt tgggtgttgtt aatgtttttt aatgtttttt aatgtttttt 60
aacgacaagc cacgagcaac atcgatattc acgtcagttt tccaaatgg aatgtttt 118

<210> 124

<211> 81

<212> DNA

<213> *Aeromonas hydrophila*

<400> 124

caacacccaa gaagtgtttct aaggctgttgc gcagataccg agaacgttaca acaaaatcc 60
ctttctcaga ttgtttttt t 81

<210> 125

<211> 96
 <212> DNA
 <213> *Cedecea davisae*

<400> 125
 caacacccaa ggtgtttgc gagacgcaat tttaatttc agcgaagttc aggattagac 60
 ttaggtcac aaagtgcagg tcagtaaaca gaattt 96

<210> 126
 <211> 217
 <212> DNA
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 126
 caacgcctaa gtgttttgg gagctaagt aagtaagaga taaaaagcga agcaaataaa 60
 agcagagcga aagagaagta aaagactaaa caaagaaaag taaatataga agacttaata 120
 gaaagaaaat cggattcagc ttgtgaccaa taagaacgag taaaaggtag aggaaagact 180
 gagtaacgag agataaaaaga gacgagagat aaaagag 217

<210> 127
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> *Moraxella catarrhalis*

<400> 127
 caacacccaa gtggtttacc actgactgtg ttgattggta atatataaga tgaaccttaa 60
 tcttgattt gtaataaaca gactcataca 90

<210> 128
 <211> 134
 <212> DNA
 <213> *Pasteurella pneumotropica*

<400> 128
 cgaggactta accaaatttg tttatcgtaa caatgtcgtt tatccagtt taaaagaata 60
 aatttttatt aaataactct tgcattattc tacagagttg ttataataaa acatgtccctt 120
 caaaagtatt caag 134

<210> 129
 <211> 141
 <212> DNA
 <213> *Stenotrophomonas multophila*

<400> 129
 taaccttggt agtccaaggc cgagtacaac tgctcgatac aaaagctaca acccnactta 60
 cttcttccag attcatggcc acgctgaaca aagcgtaggg tggccggctg tnccgcccac 120
 gcgttaactca agcgtagcca g 141

<210> 130
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 130
 caacacccaa ggggtttga tggactcaat gaaagaacat tgaatgtgt aaaaaaaaaa 60
 ttaaaaaaca gcttccaga ttaaagaatt tgcttggcga 100

<210> 131

<211> 122

<212> DNA

<213> *Vibrio fisheri*

<400> 131

caacacccaa gtggtttga tcaagcatta tatcgatatac accgttatcc ttgattcagt 60
taggataagt gatacttaag tcattaagta aaacaaacac agactcatat ctaacccct 120
tt 122

<210> 132

<211> 122

<212> DNA

<213> *Vibrio harveyi*

<400> 132

caacacccaa gtggtttga tcaagcatta tatcgatatac accgttatcc ttgattcagt 60
taggataagt gatacttaag tcattaagta aaacaaacac agactcatat ctaacccct 120
tt 122

<210> 133

<211> 89

<212> DNA

<213> *Vibrio paramaemolyticus*

<400> 133

caacacccaa ggggtttga tggactcgaa gcaagaacag aattgaatgt gtagagaaca 60
caaaaacagc tttccgaatt aaagaattt 89

<210> 134

<211> 169

<212> DNA

<213> *Vibrio proteolyticus*

<400> 134

caacacccaa ggggtttga tggactcaat gaaagaacat tgaatgtgta agaacgagaa 60
ttaaaaaaca gctttccgaa tttaggaattt gaatttattt acgacatcca tgcgttaac 120
ccttcgggcc gcactgaagt gcgttaattt ttgttccaga caaaatttt 169

<210> 135

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

←220→

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 135

gcctggcgcc actagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 136

<211> 33

<212> DNA

<213> *Buttiauxella agrestis*

<400> 136

gcctggcgcc agtagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 137
<211> 33
<212> DNA
<213> *Enterobacter agglomerans*

<400> 137
gcctggcggc tttagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 138
<211> 33
<212> DNA
<213> *Erwinia carotovora*

<400> 138
gcctggcggc gatagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 139
<211> 33
<212> DNA
<213> *Erwinia chrysanthemi*

<400> 139
gcctggcggc ggttagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 140
<211> 33
<212> DNA
<213> *Escherichia coli*

<400> 140
gcctggcggc agtagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 141
<211> 33
<212> DNA
<213> *Escherichia hermannii*

<400> 141
gcctggcggc aagagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 142
<211> 33
<212> DNA
<213> *Escherichia vulneris*

<400> 142
gcctggcggc actagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 143
<211> 33
<212> DNA
<213> *Hafnia alvei*

<400> 143
gcctggcggc gatagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 144
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Klebsiella oxytoca*

<400> 144
 gcctggcggc actagcgcgg tggtccaccc tga

32

<210> 145
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> *Kluyvera cryoescens*

<400> 145
 gcctggcggc aacagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 146
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> *Morganella morganii*

<400> 146
 gcctggcggc cgtagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 147
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> *Pantoea dispersa*

<400> 147
 gcctggcggc aacagccgcg gtggtcccac c

31

<210> 148
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 148
 gcttggtggc catagcgcgg tggtcccacc tga

33

<210> 149
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattungen *Proteus*, *Providencia*

<400> 149
 gtctggcggc aatagcacgg tggtcccacc tga

33

<210> 150
 <211> 33
 <212> DNA

<213> *Rahnella aquatilis*

<400> 150

gcctggcggc agtagcgcgg tggcccacc tga

33

<210> 151

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung *Serratia*

<400> 151

gcctggcggc aatagcgcgg tggcccacc tga

33

<210> 152

<211> 33

<212> DNA

<213> *Yersinia enterolytica*

<400> 152

gcctggcggc catagcgcgg tggacccacc tga

33

<210> 153

<211> 33

<212> DNA

<213> *Yersinia pseudotuberculosis*

<400> 153

gtctggcggc catagcgcgg tggtcycacc tga

33

<210> 154

<211> 51

<212> DNA

<213> *Acinetobacter calcoaceticus*

<400> 154

aagtatccat accagttgtg ctggcgacca tagcaagagt gaaccacctg a

51

<210> 155

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung *Aeromonas*

<400> 155

gcctggcggc catagcgccg tggaaccacc tga

33

<210> 156

<211> 51

<212> DNA

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 156	aaaagacgag ttatcaaaga attatcctgg cggcgatagt gcgggtggacc c	51
<210> 157		
<211> 54		
<212> DNA		
<213> <i>Moraxella catarrhalis</i>		
<400> 157	acagcggttgt taatcctttt acgctgacga caatagcaag atggaaccac ctga	54
<210> 158		
<211> 43		
<212> DNA		
<213> <i>Pasteurella pneumotropica</i>		
<400> 158	tcttagtgatg atggcgaaga ggtcacaccc gttcccatac cga	43
<210> 159		
<211> 54		
<212> DNA		
<213> <i>Stenotrophomonas multophila</i>		
<400> 159	acaagtcaaa gcctgatgac catagcaagt cggtcccacc cttcccatc ccga	54
<210> 160		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> <i>Vibrio alginolyticus</i>		
<400> 160	gcttggcgac catagcgttt tggaccacc tga	33
<210> 161		
<211> 51		
<212> DNA		
<213> <i>Vibrio fisheri</i>		
<400> 161	ctcatatcta accccctttg ctgacgacaa tagcacgatg gcaccacctg a	51
<210> 162		
<211> 45		
<212> DNA		
<213> <i>Vibrio harveyi</i>		
<400> 162	gcttggcgac catagcgatt tggaccacc tgacttccat tccga	45
<210> 163		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> <i>Vibrio proteolyticus</i>		

<400> 163
gcttggcgac catagcgttt tggacccacc tga 33

<210> 164
<211> 37
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattungen *Rahnella*, *Serratia*, *Yersinia*

<400> 164
agattttcag cgaagttccg agattggttt caatggc 37

<210> 165
<211> 18
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattungen *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pantoea*

<400> 165
ggaaggagca taciiagtgat 18

<210> 166
<211> 32
<212> DNA
<213> *Budvicia aquatica*

<400> 166
aggccctga aggaacgttt gagactaaga cg 32

<210> 167
<211> 32
<212> DNA
<213> *Buttiauxella agrestis*

<400> 167
aggteetga aggaaegttg aagaactaega cg 32

<210> 168
<211> 32
<212> DNA
<213> *Enterobacter agglomerans*

<400> 168
aggacactaa aggaacgttg aagacgacga cg 32

<210> 169
<211> 32
<212> DNA

<213> *Erwinia carotovora*

<400> 169

atgccccctga agggccgttg aagactacga cg

32

<210> 170

<211> 32

<212> DNA

<213> *Erwinia chrysanthemi*

<400> 170

aggccccctga agggacgttt aagacgaaga cg

32

<210> 171

<211> 29

<212> DNA

<213> *Escherichia coli*

<400> 171

agggtcctga aggaacgttg aagacgacg

29

<210> 172

<211> 32

<212> DNA

<213> *Escherichia hermannii*

<400> 172

agagtcctga aggaacgttg aagacgacga cg

32

<210> 173

<211> 32

<212> DNA

<213> *Escherichia vulneris*

<400> 173

agtctcctga aggaacgttg aagacgacga cg

32

<210> 174

<211> 32

<212> DNA

<213> *Hafnia alvei*

<400> 174

~~agtctcctaa aggaaegttt aagactaaga cg~~

32

<210> 175

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattungen Klebsiella, Kuyvera

<400> 175

agggtcctga aggaacgttg aagacgacga cg

32

<210> 176
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Morganella morganii*

<400> 176
 agggtcctga aggaacgttt gagactaaga cg 32

<210> 177
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Pantoea dispersa*

<400> 177
 agggtcctga agggacgctg aagacgacga cg 32

<210> 178
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Pantoea*

<400> 178
 aggacactaa aggaacgtta aagacgatga cg 32

<210> 179
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 179
 agtgacctaa aggaacgttt aagactaaga cg 32

<210> 180
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Proteus rettgeri*

<400> 180
 agggtcctaa aggaacgttt aagactaaga cg 32

<210> 181
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Providencia stuartii*

<400> 181
 agggtcctaa aggaacgttt aagacgaaaga cg 32

<210> 182
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> *Rahnella aquatilis*

<400> 182
 agccacctga agggacgttt aagactaaga cg
 32

<210> 183
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Serratia

<400> 183
 agccacctga aggaacgttt aagactaaga cg

32

<210> 184
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Yersinia enterolytica

<400> 184
 agccacctga aggaacgtta aagactatga cg

32

<210> 185
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Yersinia pseudotuberculosis

<400> 185
 agccacctga gggAACgtta aagactatga cg

32

<210> 186
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Cedecea davisae

<400> 186
 agccacctga agggacgttg aagactacga cg

32

<210> 187
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattungen Buttiauxella, Escherichia,
 Klebsiella, Kluyvera, Pantoea

<400> 187
 agatgaggatc tccctgaccc ttta

24

<210> 188
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattungen Enterobacter, Pantoea

<400> 188
agatgagttc tcccttgtcc ttta

24

<210> 189
<211> 24
<212> DNA
<213> Erwinia carotovora

<400> 189
agatgagttc tccctgggca ccag

24

<210> 190
<211> 24
<212> DNA
<213> Erwinia chrysanthemi

<400> 190
agatgagttc tccctgggca cttg

24

<210> 191
<211> 24
<212> DNA
<213> Escherichia hermannii

<400> 191
agatgagttc tccctgactc cttg

24

<210> 192
<211> 24
<212> DNA
<213> Escherichia vulneris

<400> 192
agatgagttc tccctgagac ttta

24

<210> 193
<211> 24
<212> DNA
<213> ~~Hafnia alvei~~

<400> 193
agatgagttc tccctgagac cttg

24

<210> 194
<211> 24
<212> DNA
<213> Morganella morganii

<400> 194
agatgagttc tccctgaccc ttta

24

<210> 195
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Proteus mirabilis*
 <400> 195
 agatgagtct tccctgtcac ttta

24

<210> 196
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Proteus rettgeri*
 <400> 196
 agatgagtct tccctgaccc ttta

24

<210> 197
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Providencia stuartii*
 <400> 197
 agatgagtct tccctgactc ttta

24

<210> 198
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Rahnella aquatilis*
 <400> 198
 agatgagtct tccctgtggc ttta

24

<210> 199
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Yersinia enterolytica*
 <400> 199
 agatgagtct tccctggggc ttta

24

<210> 200
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Yersinia pseudotuberculosis*
 <400> 200
 agatgagtct tccctggggc ttta

24

<210> 201
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Cedecea davisae*
 <400> 201
 agatgaattc tccctgggtc cttg

24

<210> 202
 <211> 199
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Citrobacter

<400> 202
 caacgcccgaatgtttgg cggaatttag aagattttca gcattgattc agagtccgaa 60
 ggattttgcgttgagacaag gcggcawccc caccacggaa ggagcataca aaagtatgtg 120
 actgagggttc gcaagcgcag ccaacgcagt atcagcacaa aagacacagg acagagcaca 180
 aagaatttctt ggcggccgt 199

<210> 203
 <211> 199
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Citrobacter

<400> 203
 caacgcccgaatgtttgg cggtttgaga agatttttag tattgattac agattttgcgttg 60
 aaaacgaaag attttacgct gaggcaaggc ggcaagtggaa gcgcacggaa kggcatacaa 120
 aagtatgtga ctgagggttcg caggcgcagc caacgcagca tcagtggaaa agattcgaaa 180
 taagagcaca aagaatttc 199

<210> 204
 <211> 199
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 204
 caacscscaa gatgtttgg csgatsagag argattttca gcactgattc ckgattttcg 60
 vgaacgaaag attttacgct gaggcaaggc rgcaavcgaa gggaaagggaa gagcataactg 120
 aagtatgtga ctgactttac gagcgcagcc aacgcttagca tcsgtgtaaa agattcgaaa 180
 ctggcaacag aatttcctg 199

<210> 205
 <211> 201
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 205
 caacgcccgaatgtttgg cggatranaa sacgaacaat tttcagcact gattcagagt 60
 tgagtacgca ataatttgcgttgagacaag gcggcaaggc aaggaaagggaa aggagcatac 120
 agaagtatgt gactgactt acgagcgcag ccaacgcgcg tcatgcata aagaattgcgttg 180
 tacagagcaca aaaagaatataat t 201

<210> 206
 <211> 193
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Salmonella*

 <400> 206
 caacggccaa gatgtttgg csgttgagaa gacgatttc agcagtgatt ccgrggtttag 60
 trcgcmtaa ttckgcgcg wgcarggcgg cargcgaagg arrggagggaa gcatccwga 120
 gtatktgact gagtttcgr ggcwggcam cgccgctgat gcgataaaga attgcgtach 180
 gmgcacamag aat
 193

<210> 207
 <211> 199
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Salmonella*

 <400> 207
 caacggccaa gatgtttgg cggattgaga gacgatttc agcactgatt ccggatttc 60
 gggAACGAAA gatttacgc tgaggcaagg cggcaaATgr aggAAAGGAA ggagcatact 120
 gaagtatgtg actgactttt cgaatgcagc cgacgcagca tcgggttaaa agattcgtt 180
 ccggcaacag aattgtcct
 199

<210> 208
 <211> 189
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Salmonella*

 <400> 208
 caacggccaa gatgtttgg cggatgagag acgatttca gcactgattc agagttgagt 60
 acgcaataat ttgcgcagca gcaaggcggc aagcgaagga aaggaaggag catacagaag 120
 tatgtgactg agtttacgag cgcaggcaac gccgctgatg cgataaagaa ttgcgtactg 180
 agcataaaa
 189

<210> 209
 <211> 196
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Salmonella*

 <400> 209
 caacggccaa gatgtttgg cggattgaga agacaacaat tttcagcyca gattcagagt 60
 ccgaaggatt ttacgctgag acaaggcggc aaacgcagcs mcsgaaggas cmycacagaa 120
 gtatgtgact gacgctcgca agagcagcca acgcccgtatc agtgtaaaag acacaggacg 180
 grgcacaaaag aaattt
 196

<210> 210
 <211> 77
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Salmonella*

<400> 210
 gagagacat tttcagcaact gattccggat tttcgggaac gaaagataaa agattcg 60
 ccggcaacag aatttcc 77

<210> 211
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten und Gattungen der Eubakterien

<400> 211
 ggtacgcgag ctgggttttag aacg 24

<210> 212
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten und Gattungen der Eubakterien

<400> 212
 gbgagagtag gdmayyygcc 19

<210> 213
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 213
 ccggagtgga cgaacctctg gtgtccgggt tgcacgcca gtggcattgc cgaa 54

<210> 214
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 214
 ccggagtgga cgtactctgg tttccgggt gttctgcca gggcattgcc ggg 53

<210> 215
 <211> 54
 <212> DNA

<213> *Agrobacterium vitis*

<400> 215

ccggatgga catatctctg gtggacctgt tgtcgtgcc acggcatagc aggg

54

<210> 216

<211> 54

<212> DNA

<213> *Adalia bipunctata*

<400> 216

ccgaggtgga cgtacctcttg gtggaccagt tgtcatgcc atggcacagc tggg

54

<210> 217

<211> 54

<212> DNA

<213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 217

ccggacgga cgaacctcttg gtgtgccagt tgtcctgcc agggcatggc tgg

54

<210> 218

<211> 54

<212> DNA

<213> *Brucella ovis*

<400> 218

ccggatgga cgtatctnttg gtggacctgt tgtggcgcc gccgcatagc aggg

54

<210> 219

<211> 54

<212> DNA

<213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 219

ccgggtgaa cgtacctcttg gtggagctgt tgtcgcgc gccccatgtgc agca

54

<210> 220

<211> 54

<212> DNA

<213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 220

ccggatgga cgcacccgctg gtgtaccagt tgttctgcc agggcatcgc tggg

54

<210> 221

<211> 54

<212> DNA

<213> *Rhodobacter sphaeroides*

<400> 221

ccggatgga cgcacccgctg gtgtaccagt tgttctgcc agggcatcgc tggg

54

<210> 222

<211> 57

<212> DNA

<213> Rickettsia prowazekii

<400> 222

ccgaggtgga cgtacccctg gtggaccagt tgtcgtgcc a cggcaagct ggtagc 57

<210> 223

<211> 54

<212> DNA

<213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 223

ccggagtgga cgaacctctg gtgtaccggt tgtcacgcc a gtggcattgc cggg 54

<210> 224

<211> 54

<212> DNA

<213> Zymomonas mobilis

<400> 224

ccgggggtgaa catgcctctg gtggacctgt cgtggcgcca gcccgcgcagc aggg 54

<210> 225

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 225

ccagagtgga cgaacctctg gtgtaccggt tgtcacgcc a gtcgcacgc cggg 54

<210> 226

<211> 53

<212> DNA

<213> Pseudomonas cepacia

<400> 226

ccgggacgac gaacctctgg tgtgtcagtt gtactgccaa gtgcaccgct gat 53

<210> 227

<211> 54

<212> DNA

<213> Ralstonia pickettii

<400> 227

ccggagtgga cgaacctctg gtgtccgggt tgtcacgcc a gtggcattgc cggg 54

<210> 228

<211> 54

<212> DNA

<213> Campylobacter jejuni

<400> 228

ccgggttgaa caaaccactg gtgttagctgt tgttctgcc a agagcatgc agcg 54

<210> 229
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 229
 ccgggatgga cgtgtcactg gtgcaccagt tgtctgcca gagcatcgct ggg 53

<210> 230
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 230
 ccgggacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgttctgcca agagcacggc tgg 53

<210> 231
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 231
 ccgggatgga cacaccgctg gtgtaccagt tgttccgcca ggagcatcgc tggg 54

<210> 232
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 232
 ccgggatgga cgcaccgctg gtgtaccagt tgttctgcca agggcatcgc tggg 54

<210> 233
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 233
 ccgggatgga ctgacacctg gtgtaccagt tgttccgcca ggagcatggc tggg 54

<210> 234
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Frankia*

<400> 234
 ccgggacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgttctgcca agggcatggc tgg 54

<210> 235
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Microbispore bispora*

<400> 235
 ccggAACGGA cgaacctctg gtgtGCCAGT tGTGCCGCCA ggtgcACGGC tggT 54

<210> 236
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium leprae*

<400> 236
 ccgggACGGA cgaacctctg gtataccAGT tGTCTCACCA ggggcACCGC tggA 54

<210> 237
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 237
 ccgggACGGA cgaacctctg gtataccAGT tGTCCCACCA ggggcACCGC tggA 54

<210> 238
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 238
 ccgggACGGA cgaacctctg gtgcACCAAGT tGTCCCACCA ggggcACCGC tggA 54

<210> 239
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium gallisepticum*

<400> 239
 ccggAGTgAA gacacctttt gtgctccAGT tGTAGCGCCA actgcACCGC tggG 54

<210> 240
 <211> 58
 <212> DNA
 <213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 240
 ccgggACGGA ccaacctctg gtgtGCCAGT tGTCCACCA ggAGCATGGC tggTTGGC 58

<210> 241
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 241
 ccgggACGGA cgaacctctg gtgtGCCAGT tGTCCGCCA ggAGCACCGC tggT 54

<210> 242
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus fascians*

<400> 242
 ccgggacac gaac ctctgg tgtccagtt gttccaccag gagcaccgct gggtggc 57

<210> 243
 <211> 58
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 243
 ccggatgga cata cctctg gtgtaccagt tgtcgtgcc a cggcatagc tggtagc 58

<210> 244
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 244
 ccggatgga cttnccgctg gtgtaccagt tttctgcc a gggcattgc tggg 54

<210> 245
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 245
 ccggatgga cttnccgctg gtgtaccagt tttctgcc a gggcattgc tggg 54

<210> 246
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 246
 ccggatgga cgtaccgctg gtgtacctgt tgtctgcc a gggcatcgc aggg 54

<210> 247
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 247
 ccggatgga cagacctctg gtgaacctgt catnccgcc a ggtgtacggc aggg 54

<210> 248
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 248
 ccggaggaac gcaccgctgg tgtaccagtt atcgtgccaa cggtaaacgc tggg 54

<210> 249
 <211> 55
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 249
 ccggaaagta cgcacctctg gtgtacctgt tatacgccaa acggtaaacg caggg 55

<210> 250
 <211> 59
 <212> DNA
 <213> Borrelia burgdorferi

<400> 250
 ccgagatgga cgaacctcta gtgtaccagt tatacgccaa agggtaagtg ctgggtacg 59

<210> 251
 <211> 58
 <212> DNA
 <213> Chlamydia trachomatis

<400> 251
 ccgaaatgga cgaaccaatg gtgtgtcggt tttttgc当地 agggcatagc cgatgc 58

<210> 252
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas stutzeri

<400> 252
 gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggaa aacttgcctc aa 42

<210> 253
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Thiobacillus ferrooxidans

<400> 253
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggaa gccatcctaa g 41

<210> 254
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Agrobacterium vitis

<400> 254
 tggataaccg ctgaaggcat ctaagcggaa aaccaacctg a 41

<210> 255
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Adalia bipunctata

<400> 255
gggataaccg ctgaatgcat ctaagcagga aactcacctc a 41

<210> 256
<211> 41
<212> DNA
<213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 256
aggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgcttc g 41

<210> 257
<211> 42
<212> DNA
<213> *Brucella ovis*

<400> 257
gggataaccg ctgaaggcat ntaagcggga aacccacctg aa 42

<210> 258
<211> 41
<212> DNA
<213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 258
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacccacctc a 41

<210> 259
<211> 41
<212> DNA
<213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 259
gggataagtg ctgaaagcat ctaagcatga agccccctc a 41

<210> 260
<211> 41
<212> DNA
<213> *Rhodobacter sphaeroides*

<400> 260
aggataaccg ctgaaggcat ctaagcggga agcccccttc a 41

<210> 261
<211> 40
<212> DNA
<213> *Rickettsia prowazekii*

<400> 261
gggataactg ctgaatgcat ctaagcagga aacccacctc 40

<210> 262
<211> 41
<212> DNA
<213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 262
 gagataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttgcctt g 41

<210> 263
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Zymomonas mobilis

<400> 263
 gggataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctccctc a 41

<210> 264
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 264
 gggataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctacctc a 41

<210> 265
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas cepacia

<400> 265
 gggataaaccg ctgaaagcat ctaagcggga agctcgcttc a 41

<210> 266
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Ralstonia pickettii

<400> 266
 gagataaaccg ctgaaagcat ctaagcggaa aacttgcctc a 41

<210> 267
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Campylobacter jejuni

<400> 267
 aggataaaacg ctgaaagcat ctaagcgtga agccaaactct a 41

<210> 268
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Helicobacter pylori

<400> 268
 tgtgataact gctgaaagca tctaagcagg aaccaactcc aa 42

<210> 269

<211> 41
<212> DNA
<213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 269
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agctcgcttc g

41

<210> 270
<211> 41
<212> DNA
<213> *Bacillus halodurans*

<400> 270
gggataagtg ctgaaagcat ctaagcatga agccccccctc a

41

<210> 271
<211> 40
<212> DNA
<213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 271
gggataaacg ctgaaagcat ctaagcgtga agcccacctc

40

<210> 272
<211> 41
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattung *Frankia*

<400> 272
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgcttc g

41

<210> 273
<211> 41
<212> DNA
<213> *Microbispore bispora*

<400> 273
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcccgcccc g

41

<210> 274
<211> 41
<212> DNA
<213> *Mycobacterium leprae*

<400> 274
aagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttctcc a

41

<210> 275
<211> 41
<212> DNA
<213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 275

aggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacctttcc a 41
 <210> 276
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 276
 aggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aaccttctcc a 41
 <210> 277
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium gallisepticum*

<400> 277
 cggataaacg ctgaaagcat ctaagtgtga aaccgacttt a 41
 <210> 278
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 278
 agtgataacc gctgaaagca tctaagtggg aagcacgctt caa 43
 <210> 279
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 279
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgttcc a 41
 <210> 280
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 280
 gggataaagtg ctgaaagcat ctaagcatga agccccccctc a 41
 <210> 281
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 281
 gggataaacg ctgaaagcat ctaagtgtga agcccnccctc a 41
 <210> 282
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 282

gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgcttc g 41
 <210> 283
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 283
 gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aactcgccctg a 41
 <210> 284
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 284
 tagataagcg ctgaaagcat ctaagtgcga aactagccac g 41
 <210> 285
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> *Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung Synechococcus*

<400> 285
 gtggataacc gctgaaagca tctaagtggg aagcccacct caa 43
 <210> 286
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> *Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung Synechocystis*

<400> 286
 gtggataacc gctgaaagca tctaagtggg aagcccacct caa 43
 <210> 287
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 287
 aggataaccg ctgaaagcat ctaagtggga agcttccctc a 41
 <210> 288
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 288
 aggataagca ttgaaagcat ctaaatgccca agcctccctc a 41

<210> 289
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 289
 agatgagatc tcactggagc cttg

24

<210> 290
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 290
 atgagatctc ccgggcata

19

<210> 291
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> *Agrobacterium vitis*

<400> 291
 aaacgagttat tccctata

18

<210> 292
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 292
 aaactagact tccccata

18

<210> 293
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 293
 agatgagggc tccccacctcc ttg

23

<210> 294
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> *Brucella ovis*

<400> 294
 aaacgagttat tccctata

18

<210> 295
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 295
 aaacgagcat tcccttg

17

<210> 296
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 296
 agatgagatt tcccatccg ca

22

<210> 297
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> *Rhodobacter sphaeroides*

<400> 297
 agatgagatt tcccatccg ca

22

<210> 298
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> *Rickettsia prowazekii*

<400> 298
 aaactagact tccccatt

18

<210> 299
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 299
 agatgagatt tcccgagcc ttg

23

<210> 300
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> *Zymomonas mobilis*

<400> 300
 agataagata tctc

14

<210> 301
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 301
 agataagatt tccctaggac ttta

24

<210> 302
 <211> 23
 <212> DNA

<213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 302

agatgagatt tccatacacc ttg

23

<210> 303

<211> 24

<212> DNA

<213> *Ralstonia pickettii*

<400> 303

agatgagatc_tcactggaac ctgg

24

<210> 304

<211> 24

<212> DNA

<213> *Campylobacter jejuni*

<400> 304

agatgaatct tctctaagct ctct

24

<210> 305

<211> 13

<212> DNA

<213> *Helicobacter pylori*

<400> 305

gataaacttt ccc

13

<210> 306

<211> 23

<212> DNA

<213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 306

agatgaggtt tccaccacc ttg

23

<210> 307

<211> 22

<212> DNA

<213> *Bacillus halodurans*

<400> 307

agatgagatt tcccatggag ta

22

<210> 308

<211> 22

<212> DNA

<213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 308

agatttagatt tcccacagcg ta

22

<210> 309

<211> 23

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattung Frankia

<400> 309

agatgaggtc tccccacaggg tag

23

<210> 310

<211> 23

<212> DNA

<213> Microbisporea bispora

-----<400> 310-----

agatgaggtc tccctccggg tta

23

<210> 311

<211> 22

<212> DNA

<213> Mycobacterium leprae

<400> 311

agatcaggtt tcttacccac tt

22

<210> 312

<211> 22

<212> DNA

<213> Mycobacterium smegmatis

<400> 312

agaccaggct tctcaccctc ta

22

<210> 313

<211> 22

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 313

agatcaggtt tctcaccac tt

22

<210> 314

<211> 30

<212> DNA

<213> Mycobacterium gallisepticum

<400> 314

agaataatct tcccttccag caatggagta

30

<210> 315

<211> 21

<212> DNA

<213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 315

gatgagggtt cctgcacagt t

21

<210> 316
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 316
 agatgagggtt tctcacccccc tc

22

<210> 317
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 317
 agatgagagatt tcccaacttc

20

<210> 318
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 318
 agatgagattt tcccatttct tt

22

<210> 319
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 319
 agatgaggac tcccacccccc ttg

23

<210> 320
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 320
 agatgaggat tccctggcgg ctgg

24

<210> 321
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 321
 agatgagact tccttat

17

<210> 322
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 322
gatgagtact ctcatggcat 20

<210> 323
<211> 21
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattung *Synechocystis*

<400> 323
gatgagtact ctcatggtgt t 21

<210> 324
<211> 16
<212> DNA
<213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 324
agatgagata tccttt 16

<210> 325
<211> 14
<212> DNA
<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 325
agataaggta tccc 14

<210> 326
<211> 32
<212> DNA
<213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 326
agctccctga agggccgtcg aagactacga cg 32

<210> 327
<211> 32
<212> DNA
<213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 327
agccccctga agggacgtgg aagactacca cg 32

<210> 328
<211> 22
<212> DNA
<213> *Agrobacterium vitis*

<400> 328
agagccgtgg aagacgacca cg 22

<210> 329
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Adalia bipunctata

<400> 329
 agagccgtgg aagaccacca cg

22

<210> 330
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Amycolatopsis orientalis

<400> 330
 aggggttaag gctcccagta gacgactggg

30

<210> 331
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattungen *Brucella*, *Bradyrhizobium*

<400> 331
 agagccgtgg aagaccacca cg

22

<210> 332
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas paucimobilis

<400> 332
 aggaagtaag atccctgaaa gatgtatcagg

30

<210> 333
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattungen *Rhodobacter*, *Rickettsia*

<400> 333
 agggccgtgg aagaccacca cg

22

<210> 334
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 334
 agtccttga aggtcgttc gagacc

26

<210> 335

<211> 22
 <212> DNA
 <213> *Zymomonas mobilis*

<400> 335
 agagccgtcg aagactacga cg

22

<210> 336
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 336
 tgcctctaa agagccgttc gagact

26

<210> 337
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 337
 tgtgtgagag gccccccagcc agacc

25

<210> 338
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> *Ralstonia pickettii*

<400> 338
 atttccctga agggccgtcg aagact

26

<210> 339
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> *Campylobacter jejuni*

<400> 339
 agaagactac tagt

14

<210> 340
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 340
 tgaagctcgc acaaagacta tgtgc

25

<210> 341
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 341

agtggtaag gctcccagct agactact	28
<hr/>	
<210> 342	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> <i>Bacillus halodurans</i>	
<400> 342	
aatccagtaa gacccttag agatgatgag g	31
<hr/>	
<210> 343	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> <i>Bacillus subtilis</i>	
<400> 343	
aggaagtaag atccctgaaa gatgatcagg	30
<hr/>	
<210> 344	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> <i>Clostridium tyrobutyricum</i>	
<400> 344	
agctggtaag gcccttgaa gaacacaagg tg	32
<hr/>	
<210> 345	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Künstliche Sequenz	
<220>	
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung <i>Frankia</i>	
<400> 345	
cctggtaagg ccccccacta gatgatcggg	30
<hr/>	
<210> 346	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> <i>Microbispora bispora</i>	
<400> 346	
accggtaag gctcccagta gatgactggg	30
<hr/>	
<210> 347	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> <i>Mycobacterium leprae</i>	
<400> 347	
ggtggataa ggccccccgc agaacacggg a	31
<hr/>	
<210> 348	
<211> 31	

<212> DNA
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 348
 ggagggataa ggccccccgc agaccacggg a

31

<210> 349
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 349
 ggtgggataa ggccccccgc agaacacggg t

31

<210> 350
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 350
 aatgtggtaa ggccccccgt agaccaccgg

30

<210> 351
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 351
 gagggggtaa ggccccccgc agaccaccgg g

31

<210> 352
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 352
 ggttataaga tccctcaaag atgatgagg

29

<210> 353
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 353
 aagaaagtaa gaccctnan agatgatcag g

31

<210> 354
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 354
 aggggttaag gctcccagta gacgactggg

30

<210> 355
 <211> 32

<212> DNA
 <213> *Flavobacterium resinovorum*
 <400> 355
 accgccttga a~~gggtcg~~ttc gagaccagga cg

32

<210> 356
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> *Sphingobacterium multivorans*
 <400> 356
 agggtcgtag aagatgacta cg

22

<210> 357
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 357
 aagccagtaa ggtcacgggt agaacacccg

30

<210> 358
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechocystis*

<400> 358
 aagccagtaa ggtcacggga agactacccg

30

<210> 359
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 359
 a~~agggt~~teetg gaagaataee agg

23

<210> 360
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 360
 aatgagactc catgtagact acgtgg

26

<210> 361
 <211> 40
 <212> DNA

<213> Rhodobacter sphaeroides

<400> 368

agcaatgcgt tcagctgact ggtactaatt gccccgatagg

40

<210> 369

<211> 40

<212> DNA

<213> Rickettsia prowazekii

<400> 369

agtaatgtgt ttagcttaacc gatactaata gctcgattga

40

<210> 370

<211> 40

<212> DNA

<213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 370

agtaatgcgt taagcttaacc agtactaatt gccccgtncgg

40

<210> 371

<211> 40

<212> DNA

<213> Zymomonas mobilis

<400> 371

ggtaaacacat ttagcttaact ggcccttaatt gctctattca

40

<210> 372

<211> 40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 372

agtgtatgtt gaagctgacc aatactaatt gctcgtgagg

40

<210> 373

<211> 40

<212> DNA

<213> Ralstonia pickettii

<400> 373

tgtgaggcgt ttagcttaacc aatactaatt gccccgtgagg

40

<210> 374

<211> 40

<212> DNA

<213> Campylobacter jejuni

<400> 374

tgaaagtcct ttagctgacc agtactaataa gagcgtttgg

40

<210> 375
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 375
 agtaatgcgt ttagctgact actactaata gagcgtttgg

40

<210> 376
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 376
 ggcgacacgt gaagctgaca gatactaata ggtcgaggac

40

<210> 377
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 377
 ggcgacacat ggagctgaca gatactaata gatcgaggac

40

<210> 378
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 378
 ggcaacatgt tcagctgact gatactaata ggccgagggc

40

<210> 379
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Frankia*

<400> 379
 cggtgacgca tggagctgac cggtactaat aggccgaggg c

41

<210> 380
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> *Microbispore bispora*

<400> 380
 cggtaacgtg tggagccgac cggtactaat aagccgagag gc

42

<210> 381
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium leprae*

<400> 381
 cagtaatgag tgttaggaaac tggcactaac tggccgaaag c 41

<210> 382
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 382
 tagtaatagg tgcagggaaac tggcactaac cggccgaaaa c 41

<210> 383
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 383
 cagtaatggg tgttaggaaac tggtgctaac cggccgaaaa c 41

<210> 384
 <211> 86
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium gallisepticum*

<400> 384
 agaatcgttg tagactacga cgttgatagg ctaaagggtgt aagtgccg 60
 ctgattagta ctaataattc gaggac 86

<210> 385
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 385
 gctgaccgat actaagtggc cgagggc 27

<210> 386
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 386
 cagtaatgca tgcaggtgac tggtaactaat aggccgaggac 41

<210> 387
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus fascians*

<400> 387
 cagcaatgta tgcaggtgac tggtaactaat aggccgaggac 41

<210> 388
 <211> 27
 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 388

gctgacgaat actaatcgat cgagggc

27

<210> 389

<211> 27

<212> DNA

<213> *Streptococcus faecalis*

<400> 389

gcggaccaat actaatcggt cgaggac

27

<210> 390

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 390

ccgcaaggtg tggaggtgac cggtaactaat aggccgaggg cttgtcctca t

51

<210> 391

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces galbus*

<400> 391

cggtaacgtg tggaggtgac cggtaactaat aggccgaggg cttgtcctca g

51

<210> 392

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces griseus*

<400> 392

cggtaacggg tggagctgac tggtaactaat aggccgaggg cttgtcctca g

51

<210> 393

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces lividans*

<400> 393

cggtaagggtg tggaggtgac cggtaactaat aggccgaggg cttgtcctca g

51

<210> 394

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces mashuensis*

<400> 394

cggtaacggt tggagctgac tggtaactaat aggccgaggg cttgtccata g

51

<210> 395

<211> 28

<212> DNA

<213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 395

gctaaccagt actaattgcc cgtaaggc

28

<210> 396

<211> 28

<212> DNA

<213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 396

gccaaagtgg actaatagcc cgaaggct

28

<210> 397

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 397

gctgaggcgt actaataagac cgagggc

27

<210> 398

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet von Arten der Gattung *Synechocystis*

<400> 398

gtcgaggagt actaataagac cgagggc

27

<210> 399

<211> 27

<212> DNA

<213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 399

gctgactaat actaattacc cgtatct

27

<210> 400

<211> 28

<212> DNA

<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 400

gctaaccaat actaataagt ccaaagac

28

<210> 401

<211> 36

<212> DNA

<213> *Salmonella typhi*

<400> 401
 cttAACCTTA caacGCCGAA gATGTTTGG CGGATG 36

<210> 402
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Buchnera aphidocola

<400> 402
 cttAACCTTA caacACCAGA gGTGTTTTT ATAAA 35

<210> 403
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas stutzeri

<400> 403
 cttGACCATA taACACCCAA aCAATTGAT GTTGT 35

<210> 404
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Thiobacillus ferrooxidans

<400> 404
 cttGACCATA tatCACCAAG cATTAAAGAG CTTCC 35

<210> 405
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 405
 cttGTCCTTA taACCTTGGT agtCCAAGGT CGAGT 35

<210> 406
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 406
 cttGACTATA caACACCCAA gCAGTTGTAT ATAAA 35

<210> 407
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas cepacia

<400> 407
 aggACTAACG ACTCGTGAAG CTG 23

<210> 408		
<211> 29		
<212> DNA		
<213> <i>Ralstonia pickettii</i>		
<400> 408		
cttgaccata taacacccaa gcaatttga	29	
<210> 409		
<211> 35		
<212> DNA		
<213> <i>Campylobacter jejuni</i>		
<400> 409		
cttacatcta ataaaggatc acttccttgt taagg	35	
<210> 410		
<211> 35		
<212> DNA		
<213> <i>Helicobacter pylori</i>		
<400> 410		
cttgggggg gctttttgtt aagataacgg caata	35	
<210> 411		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> <i>Actinoplanes utahensis</i>		
<400> 411		
cggtaacgtg ttgagttgac cggtaactaat agg	33	
<210> 412		
<211> 35		
<212> DNA		
<213> <i>Bacillus halodurans</i>		
<400> 412		
ttatccaaaa acaaattaaa agcaacgtct cgaac	35	
<210> 413		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> <i>Bacillus subtilis</i>		
<400> 413		
ttaaccacat tttgaatgtat g	21	
<210> 414		
<211> 32		
<212> DNA		
<213> <i>Clostridium tyrobutyricum</i>		
<400> 414		
ttgacccaaat ttatcttact gtgcaatttt ca	32	

<210> 415

<211> 56

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattung Frankia

<400> 415

cggtagcga tggagctgac cggtaataat aggccgaggg cttgtttcg aaggtg

56

<210> 416

<211> 56

<212> DNA

<213> Microbisporea bispora

<400> 416

cggtaacgtg tggagccgac cggtaataat aagccgagag gcttgacttc acatgc

56

<210> 417

<211> 56

<212> DNA

<213> Mycobacterium leprae

<400> 417

cagtaatgag tgttaggaaac tggcactaac tggccgaaag cttacaaaac acacac

56

<210> 418

<211> 56

<212> DNA

<213> Mycobacterium smegmatis

<400> 418

tagtaatagg tgcaggaaac tggcactaac cggccgaaaa cttacaacac cccata

56

<210> 419

<211> 56

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 419

cagtaatggg tgttaggaaac tggtgctaac cggccgaaaa cttacaacac cctccc

56

<210> 420

<211> 39

<212> DNA

<213> Mycobacterium gallisepticum

<400> 420

cgttgatagg ctaaagggtgt aagtggcgag aggtattta

39

<210> 421

<211> 39

<212> DNA

<213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 421	ttgtccccaca cttaattct tgttagattgt tgtgaagag	39
<210> 422		
<211> 41		
<212> DNA		
<213> Rhodococcus erythropolis		
<400> 422	cagtaatgca tgcagggtgac tggtaactaat aggccgagga c	41
<210> 423		
<211> 41		
<212> DNA		
<213> Rhodococcus fascians		
<400> 423	cagcaatgta tgcagggtgac tggtaactaat aggccgagga c	41
<210> 424		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> Staphylococcus aureus		
<400> 424	ttaaccaaaa taaatgtttt gcgaagcaaa atc	33
<210> 425		
<211> 42		
<212> DNA		
<213> Streptococcus faecalis		
<400> 425	ttaaccaaaag aatggataaag taaaagcaac ttggttatgg tg	42
<210> 426		
<211> 56		
<212> DNA		
<213> Streptomyces lividans		
<400> 426	ccgcaagggtg tggagggtgac cggtaactaat aggccgaggg cttgtcctca tttgct	56
<210> 427		
<211> 56		
<212> DNA		
<213> Streptomyces mashuensis		
<400> 427	cggtaacgggt tggagctgac tggtaactaat aggccgaggg cttgtccata gttgct	56
<210> 428		
<211> 43		
<212> DNA		
<213> Flavobacterium resinovorum		

<400> 428
 cttgatccta taaccagtgt gtttgccctg gtgggtgatc gcg 43

<210> 429
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 429
 ttgacacctta acactttgat atcggcac 28

<210> 430
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz
 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 430
 ttgacacctta ttcttcattt ttctttct 28

<210> 431
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Chlamydia trachomatis

<400> 431
 cttggtcattt ttatgattgg aagagccgaa aggc 34

<210> 432
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Salmonella typhi

<400> 432
 cttaacacctta caacaccgaa ggtgttttgg aggataaaag aaacagaatt t 51

<210> 433
 <211> 117
 <212> DNA
 <213> Buchnera aphidocola

<400> 433
 cttaacacctta caacaccgaga ggtgtttttt ataaaaaaaaata aaaaatcttg ttttactgaa 60
 tttatttttg tattatata tatataattat aatagacta aaaaatgcct ggtaaaa 117

<210> 434
 <211> 233
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas stutzeri

<400> 434
 cttgaccata taacacccaa acaatttgat gtttgcgtgt cagacgggtt aagtgcacaa 60
 acaaaccgaa agacgcaacg ctcgcaaagc gaaagcgata ccgaagcaac catcacatac 120
 ccaatttaggg aagcgactca acaccgactc cccagttgaa cttgcttgc gaccatagag 180
 cggttggacc acctgatccc atcccgaaact cagtagtgaa acgacgcatac gcc 233

<210> 435
 <211> 91
 <212> DNA
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 435
 cttgaccata tattcaccaag cattaaagag cttcccttca gcaacacccctc gagggcgcca 60
cagccgcgcc cgggaccaga ccagtttaa c 91

<210> 436
 <211> 230
 <212> DNA
 <213> *Agrobacterium vitis*

<400> 436
 cttaatcggtt ctcattgacc atgctcatcg acttcgtcga tgagccatct gtttagcgct 60
 cacgcattgag cggctcgat acgaggctat gctccgcgag ggcggcgaac gatcggcgac 120
 ggcgccttgcg ctgtccggact tcgtccgaaa gtgccaagca aaacgtcgcg gaatgacgtg 180
 ttcacacaaat aagaaaaacgg gcaatgccccg ccagcttctc atcaacattg 230

<210> 437
 <211> 162
 <212> DNA
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 437
 tttaacttgc tttgagatata cacatgcata tgggttaat tctataaaca tgtaagtatc 60
 aactcacaataa gtatcaggt taaatttagct ttatcaacca ataaagatgt tgttacatgt 120
 ctctttctat gttgttcctg tgaaagtaag aatctagaaaa aa 162

<210> 438
 <211> 120
 <212> DNA
 <213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 438
 tggtaacggg tggagttgac tggtaactaat aggccgaggg cttgtcctca gttgctcg 60
 tccactgtgt tagttctgaa gtaacgaaca tcgccttgc ggctggagtt caacttcata 120

<210> 439
 <211> 189
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Brucella*

<400> 439
 cttgatcact cccatttaca atatccatca agaaaaagct tgatgttcaa ggcaatatgg 60
 aagttagggca ataaggcaat atgttgcctt aaaggccctca accatcgcca cgcagaaaaaa 120
 caaagcacaa aggcaagaa caggcgcagc ccaaacatac tgcccttattc ccctaattgc 180

ttaagcccc

189

<210> 440
<211> 109
<212> DNA
<213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 440 cttgattgct ctcattttca gtgtccatag ggccgcaagg cccgcgacca gaatgaaatg 60
agaggcgcta gtcgccccaac aaagatcgct tgcttcgtat tccttgtcc 109

<210> 441
<211> 125
<212> DNA
<213> *Pseudomonas paucimobilis*

```
<400> 441
cttaaccaat ttgaatgtat gcttactgtt atctagtttt gagagaacac tctcaatgg 60
ttggtggcga tagcgaagag gtcacacccg ttcccatgcc gaacacggaa gttaagctct 120
tcagc                                         125
```

<210> 442
<211> 100
<212> DNA
<213> Rhodobacter sphaeroides

<400> 442
cttgcataa cccggtaaca gcaaggctca aaagccaaacg ctctacccca gatcagaagc 60
aataagacccg gaaacaagcaa aagccctgatg ttgtcggttc 100

<210> 443
<211> 196
<212> DNA
<213> *Rickettsia prowazekii*

```
<400> 443
tttactttgc tgtgagatta tatatgcata tagtgttaat tatataagta tttaagcatc 60
aatttgtaaa ttataatttt aatgttaaat tagctttatc aataaataaa aatgttattc 120
tatcgttta tggtagtggat tgatagtaaa gttttgatct ttctttaaga tattgttagac 180
aattgtatata tataacc 196
```

<210> 444
<211> 249
~~<212> DNA~~
<213> *Pseudomonas cepacia*

```
<400> 444
aggactaacg actcgtgaag ctgaccggta ctaataggcc gataacttac accacacacacc 60
cttttcgtga acggattcaa aagacgttca caccaggaga gggtaaaaag aaaaaacaag 120
actgcttgcg tccactatgt ggttccaaac caacaaaccc gccacgggca cgttgcgaca 180
ggaacacaac tgaataacaa caccacaatg ttgttaaccac aaagacttcc caccggc 240
atcaqaccc 249
```

```
<210> 445
<211> 209
<212> DNA
<213> Ralstonia pickettii
```

<400> 445
 cttgaccata taacacccaa gcaatttgag cgtaggcgcc aaattgttgt ggtgaagatg 60
 atacgaaccg aaagttcgca acgaaccaca acatcacata tccgaattcg ctgggctgtc 120
 catctggaca ttctggctac agaatttctt gacgaccata gacgatttga accacctgtat 180
 cccatcccga actcagcagt gnaacgatg 209

<210> 446
 <211> 271
 <212> DNA
 <213> *Campylobacter jejuni*

<400> 446
 cttatcttta ataaaagcatc acttccttgt taaggtttt aagaagactt tgaatata 60
 taatattttat agtttaatag aaatcttca agtaaagttt gtattagaac ttgctctta 120
 cattgttttt taagtattct atataaaaac ttatcaaaga taaaagataa gaaaagaaga 180
 aagagaataaa aagattaagt ttatctta aattcaattt ttcaaagaat atttaaataa 240
 caatgtccgt gattatacag atgtggaaac g 271

<210> 447
 <211> 228
 <212> DNA
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 447
 cttgtttttt gctttttagt aagataacgg caataagcgc gaatgggtta ccactgcctt 60
 actgagtgta agagagttgg agttttatga agactttt aagattaaac tttaatgagg 120
 aatgagataac catctcaatg gtttaaagttt aaaggctatt aacgatcttc tttgttaaaa 180
 acagctcccc tataaagaga aaggggagttt aagggttaat gcgttttt 228

<210> 448
 <211> 155
 <212> DNA
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 448
 cggttaacgtg ttgagttgac cggtaactaat aggccgaggg cttaaccacc ctaaattttc 60
 tgcttcgtc cactgtgtga ttcacagcaa acgaacaacc accccggttc aagagtgcgg 120
 gtttgcgtt ttgttctgtt gatggctgtt tcgtat 155

<210> 449
 <211> 296
 <212> DNA
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 449
 cttatccaaa aacaaatcaa aagcaacgtc tcgaactcga gaagcgccc attatctgt 60
 tttgagagaa tcttgcgtc caaagaagcg ctccgacgca gcatcgcaag atgcgaatgtt 120
 gatcggaaagc cgtgatcaag agattattctt cttaggtcca aagaaaaggg ttgcgaaaa 180
 cgagcgttt taggaatcga gcgacgacag atcggagcgt acacacgta cgtgaggatc 240
 tggaggagtg aagatgacac caaaatgcga tggatgcgg aggccgtaaatctta 296

<210> 450
 <211> 122
 <212> DNA
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 450

cttaaccaca ttttgaatga tgtcacacct gttatctagt tttgagagaa cacctctcta 60
 aaggcggaaag gtaaggaaac tccgctaagg gctctcacat cctgtgagaa acgcccagta 120
 cc 122

<210> 451
 <211> 209
 <212> DNA
 <213> Clostridium tyrobutyricum

<400> 451
 cttgacccaaa tttatcttac tgtcaattt tcagagaata attattctct tatctccatt 60
 agaaatataa tttttctatt ttattataga gaataaaagta agtaaattga taataaaccat 120
 tagtacaagg aagatatgag cgaagagcgg aatttactta ggtaaatgag cactggagt 180
 aataattctg acggtgtaat gagaagtt 209

<210> 452
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Frankia

<400> 452
 cggtgacgca tggagctgac cggtactaat aggccgaggg cttgtttcg aaggtgctac 60
 cggtccactg tgcggttctc gggtgtacgg ccggttcggc 100

<210> 453
 <211> 85
 <212> DNA
 <213> Microbispore bispora

<400> 453
 cggtaacgtg tggagccgac cggtactaat aagccgagag gcttgacttc acatgcacgc 60
 acccactatg cgattctcga tcagc 85

<210> 454
 <211> 124
 <212> DNA
 <213> Mycobacterium leprae

<400> 454
 cagtaatgag tggacttaac tggccgaaag cttacaaaac acacacatcg 60
~~caaccacata atteagatcc aatttgttgtt ggagccatcac acccccccac agaacaattt~~ 120
 ttta 124

<210> 455
 <211> 146
 <212> DNA
 <213> Mycobacterium smegmatis

<400> 455
 tagtaatagg tgcaggaaac tggacttaac cggccgaaaa cttacaacac cccataatcg 60
 ttgttggaaag aaaaatttgc cgcaccgcgc tcgcaaccac actccacggc tgatcaaacc 120
 cacaagttt ctctccatgt gggta 146

<210> 456
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 456
 cagtaatggg tggtagggAAC tggtgctaAC cggccgaaaa cttacaacAC cttccctttt 60
 ggaaaaggGA ggcaaaaaca aactcgcaac cacatccgtt cacggcgcta gcccgtgcgtc 120
 cacacccccc accag 135

<210> 457
 <211> 169
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium gallisepticum*

<400> 457
 cggtgatagg ctaaagggtgt aagtggcg aggtatTTAG ctgatttagta ctaataattc 60
 gaggacttag atttgatcaa aaacattAGC tgTTTTTAT ctaatATgtat ttgttgatTT 120
 ttgttttca aagagcaatg tgggtgatAT cgatatcgTG atggaaaca 169

<210> 458
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 458
 cttgtcccac actttaattc ttgttagattt tggtgaagAG ttt 43

<210> 459
 <211> 182
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 459
 cagtaatgca tgcagggtgac tggtaactaat aggccgagGA cttaccacAA agaagctacG 60
 cgtccactgt gcggtatctG aaacaacaca cagatactGA tgagaaACCC tgTTTCTCC 120
 atcccccaac accagaaact ggtgtgacG tggtgaaACC aggtgatcAG aagaaggTTA 180
 ct 182

<210> 460
 <211> 168
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus fascians*

<400> 460
 cagcaatgta tgcagggtgac tggtaactaat aggccgagGA cttaccacAA agaagctacG 60
 cgtccactgt gcaatATCTG aaacaacaca cagtagttG ttcgacaaca gaaccGAATA 120
 cacgaatccG ccacccCACAC gagtgTggGT gacaggttCG ctcgTTGA 168

<210> 461
 <211> 64
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 461
 cttaaccaAA ataaatgttt tgcaagcaa aatcactttt acttactatc tagtttgaa 60
 tgta 64

<210> 462
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 462
 cttAACCAAA gaATGGATAA gTAAAAGCAA CTGGTTATT TTGATTCAAa CTTCAATCCA 60
 gTTTgAGTg AATNAAGATT CnCTCAA 87

<210> 463
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 463
 ccgCAAGGTG TGGAGGTGAC CGGTACTAAg AGGCCGAGGG CTTGTCCTCA TTTGCTCGCG 60
 TCCACTGTGT TGGTTCTGAA ACCACGAACA ACCCCATGTG CCACACATGG TGCGGTTGTC 120
 AGT 123

<210> 464
 <211> 134
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces galbus*

<400> 464
 cggTAACGTG TGGAGGTGAC CGGTACTAAg AGGCCGAGGG CTTGTCCTCA GTTGCTCGCG 60
 TCCACTGTGT TGGTTCTGAA ACCACGAACA GCCCCATGCT CTGGCATGGT GCGGCATTGT 120
 TCGACAGTTT CATA 134

<210> 465
 <211> 143
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces griseus*

<400> 465
 cggTAACCGG TGGAGCTGAC TGGTACTAAg AGGCCGAGGG CTTGTCCTCA GTTGCTCGCG 60
 TCCACTGTGT TGTCCCCGGG TTGCGAACAG TTATCGCACC GGTGAAACAG TTTCACTACT 120
 TAATTGAAGA GTGTGCTTGT TCG 143

<210> 466
 <211> 137
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces lividans*

<400> 466
 cggTGAAGGTG TGGAGGTGAC CGGTACTAAg AGGCCGAGGG CTTGTCCTCA GTTGCTCGCG 60
 TCCACTGTGT TAGTTCTGAG GCAACGACCG TTGCGGATT TGAGTAGAAC GCACAAATTAA 120
 AGAGTGTGCT TGTTCGC 137

<210> 467
 <211> 135
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces mashuensis*

<400> 467
 cggTAACCGGT TGGAGCTGAC TGGTACTAAg AGGCCGAGGG CTTGTCCTCA GTTGCTCGCG 60
 TCCACTGTGT TGGTTCTGAA ACAACAACCA AGAACGATAC GCGTGTGT GTTGACAGTT 120

tcatagtgtt tcggc

135

<210> 468
 <211> 114
 <212> DNA
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 468
 cttgatccta taaccagtgt gttttgcctg gtgggtgatc gcgactgtgc cgaaacagtt 60
 gacacgacaca accccaacta catccctatt cgcagcgttt acctcaacct cagc 114

<210> 469
 <211> 126
 <212> DNA
 <213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 469
 ctttctcaag cagataaacac tgggtcttc ctctttaatt ttttagaaacg aaaagaataa 60
 caaaaaagaa acgaagctct ttcaatagat atgtcagttt gcctgacgat gatataattat 120
 cataag 126

<210> 470
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 470
 cttgacccctt aacactttga tatcggcaact ctcctctatg cagccttcaa ggctctaattc 60
 tcc 63

<210> 471
 <211> 67
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechocystis*

<400> 471
 cttgacccctt attcttcatt tttctttctc ttttcttgc cagtcttctg ggtttcttct 60
 cagcaaa 67

<210> 472
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 472
 ctttggccat attttttg 17

<210> 473
 <211> 111

<212> DNA

<213> Chlamydia trachomatis

<400> 473

cttggctttt ttatgattgg aagagccgaa aggcaaagac aataagaaaa agagtagaga 60
gtgcaagtac gtagaagaca agctttaag cgtctattag tatacgtgag a 111

<210> 474

<211> 148

<212> DNA

<213> Azotobacter vinelandii

<400> 474

aaacaatctg ttgccagccc cagcggggcg gcacggagag ggcgcagccg acaggccgaa 60
gatttggctg gaccgcacgc tgccgaaac aggctaccgc tattcacctac ccgattggct 120
gtcgtgtcat cgacacggcg gcaaccga 148

<210> 475

<211> 229

<212> DNA

<213> Cowduria ruminantium

<400> 475

ggtgtgttaag tatggtaaca tatgttagcta accagtacta atagcccgat tgatttactt 60
aatttgttaat tatattgtat attaaaactg cagttgtct ttttgctttat ttgttttat 120
agttaattg gtttggtggt aatagcagaa gtgatacacc cagctacatt tcgaacctgg 180
aagttaagcc ttctagcgct tatggtaactt tgtcttaagg cacgggaga 229

<210> 476

<211> 110

<212> DNA

<213> Mycobacterium intracellulare

<400> 476

taagcttgat tcacacactc gcaaccacag tccatttcgc gcgttctgcc gctgaagcta 60
gaacaccgca ccccccacca aacaattta aatagagtta cggccac 110

<210> 477

<211> 107

<212> DNA

<213> Mycobacterium lufu

<400> 477

aaaacttacc gaacacacaaa tcgcaaccac agtccatttc acggcagcaa tgccgcgaaa 60
cggccac 107

<210> 478

<211> 120

<212> DNA

<213> Mycobacterium simiae

<400> 478

taagcttgat tcacacacat cgcaaccact atcgtcgca cttattgtcg cgccgaatgc 60
cacacccccc accagaacaa ctaataaaat agtgttccgt aatagagtta cggccac 120

<210> 479

<211> 149

<212> DNA
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 479
 caccacataa cgttgta aga agaaaacatt gaccaccgct ctcgcaacca cactccacgg 60
 atgatcaaac cgatcacccc accaccaaaa caaaccacca agtttgctct ccatgtgggt 120
 caccacataa gagaataagtttacggcg 149

<210> 480
 <211> 75
 <212> DNA
 <213> *Saccharomonospora azurea*

<400> 480
 caaagatgct acgcacccac tctgcaactc tgaaacacca caccggaa acatgatcct 60
 ggttggtttac agt 75

<210> 481
 <211> 73
 <212> DNA
 <213> *Saccharomonospora caesia*

<400> 481
 caaagatgct acgcacccac tctgcaactc tgaaacacca caccggaa acgatcctgg 60
 gttgtttcac agt 73

<210> 482
 <211> 75
 <212> DNA
 <213> *Saccharomonospora cyanea*

<400> 482
 caaacatgct acgcacccac tctgcaactc tgaaacacca cccggaaac acacccggcg 60
 tgattgtttcac ccaga 75

<210> 483
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> *Saccharomonospora glauca*

<400> 483
 caaagacgct acgcacccac tctgcaactc tgaaacacca ccctgggttg ccagtggttg 60
 tttcacaga 69

<210> 484
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> *Saccharomonospora viridis*

<400> 484
 caaagatgct acgcacccac tctgcaactc tgaaacacca caccggacca acaccggct 60
 ggttggttca caga 74

<210> 485
 <211> 304
 <212> DNA
 <213> *Wolbachia pipiensis*

<400> 485
taactggtag taataggcctg attgatttat ttgctttcta tatgtgcata tgcagtgtta 60
aatattaagt taaaatttat taagtcagaa atttttgttgc acttggggc tataaaaaaa 120
atgaaccacc cgatctcatt tcgaactcg aagtggaaact ttttagcgcc gatgataactt 180
aaaaacccaa agtaggtcggt tgccaagttt ataaaaattt cttcttattt atatctttc 240
agtagagcga tgaaacaagg taaacataga ttagctgtga ggtatataaa ctgatctttt 300
agaa 304

<210> 486
<211> 34
<212> DNA
<213> *Salmonella typhi*

<400> 486
ttcctggcggt cactagcgcc gtggtcccac ctga

34

<210> 487
<211> 22
<212> DNA
<213> *Buchnera aphidocola*

<400> 487
atagtgtagt ggtaccaccc ga

22

<210> 488
<211> 53
<212> DNA
<213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 488
catcgccat ggtagctgtg gggctcccc atgtgagagt aggtcatcgt caa

53

<210> 489
<211> 35
<212> DNA
<213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 489
cttgtctggc ggccatagcg cagtggacc acccc

35

<210> 490
<211> 52
<212> DNA
<213> *Agrobacterium vitis*

<400> 490
atcaacattt cccttagctg acctgggtt catggcgaaa cggccgcacc cg

52

<210> 491
<211> 38
<212> DNA
<213> *Adalia bipunctata*

<400> 491
gccatgcaac aatgttaaca gcagactaat acaaatct

38

<210> 492
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung Brucella

<400> 492
 atgtttgtgt tcttcgccga cctgggtggtt atggcggagc ggccgcaccc ga 52

<210> 493
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Bradyrhizobium japonicum

<400> 493
 ttcgcggcc tgggtggttt agcgaagagc ctcacccga 40

<210> 494
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas paucimobilis

<400> 494
 tcttcagcgc cgatggtagt cggggttccc cctaat 36

<210> 495
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Rhodobacter sphaeroides

<400> 495
 ttctccggtc tggtgccat agcacgagca aaacacccga 40

<210> 496
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> Rickettsia prowazekii

<400> 496
 ccttgcttaa gaataatata atagcattaa cagcatatta taatacaacc tat 53

<210> 497
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Rickettsia bellii

<400> 497
 aaatttcttt aagtccctgca acaacactaa cagcaaacca atacaaatct a 51

<210> 498
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> Rickettsia rickettsii

<400> 498
 gaatttttt gagtcgtgca acaacattaa cagtagacta taatacaaat cta 53

<210> 499
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 499
 gccagacaag tcaaagcctg atgaccatag caagtcggtc ccaccccc 47

<210> 500
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> *Zymomonas mobilis*

<400> 500
 cttgggtggc tatacggtca gtgaccacc cga 33

<210> 501
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 501
 gcaagtatcc ataccagttg tgctggcgac catagcaaga gtgaaccacc tga 53

<210> 502
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 502
 cgggcggacg ggtacaaggg ttacggcggt catagcgtgg gggaaacgcc c 51

<210> 503
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> *Ralstonia pickettii*

<400> 503
 catcgccgat ggtagtgtgg ggtttccca tgcgagagta ggacatacg 48

<210> 504
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 504
 ttatcttttag ctccctttc cttgtgcctt tagagaagag gaactaccca g 51

<210> 505
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 505
 caaagaggat caagagattt gcggaagcaa gcgagtgacg aactgagcgt at

52

<210> 506
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 506
 ccttcatcct gaaggcattt gtttggtggc gatagcgaag aggtcacacc cg

52

<210> 507
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 507
 ttagcagcaa tttacggttt atctggtaac aatgacgtga aggttaacact cc

52

<210> 508
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Frankia*

<400> 508
 ggttgtatacgatgttgc ttccgggttgc tttggcgaag gggaaacgcc c

51

<210> 509
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> *Microbispore bispora*

<400> 509
 gtcctcacct gaaggcttgc cgctatcccg cgtcgagcag gtgaattccg

50

<210> 510
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium leprae*

<400> 510
 aattttatag agttacggtg gccacagcga tagggaaacg cccgg

45

<210> 511
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 511
 accacataag agaatacgt tacggcggtc catagcgca gggaaacgcc cg 52

 <210> 512
 <211> 49
 <212> DNA
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

 <400> 512
 agaacaaatt tgcatacgat tacggcggtc acagcggtc gggaaacgcc 49

 <210> 513
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

 <400> 513
 tgtgacagt ttcatcgat tacggcggtc atagcgaaagg gggaaacgcc g 51

 <210> 514
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> *Rhodococcus fascians*

 <400> 514
 ttgacactgt ttcccgatcgat tacggcggtc atagcggtt gggaaaccgcc cg 52

 <210> 515
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

 <400> 515
 tgtataaatt acattcatat gtctggtgac tatacgaaagg aggtcacacc tgg 53

 <210> 516
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> *Streptococcus faecalis*

 <400> 516
 taagaaacaa caccatgtgt ggtggcgata gcgagaagga tacacctgtt 50

 <210> 517
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

 <400> 517
 tcagtttcat agtgtttcggtt tggcatagc gtttagggaaa cgccccgg 47

 <210> 518
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> *Künstliche Sequenz*

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Streptomyces*

<400> 518
 ttcgctagaa cccgataggg tttcggtggt cattgcgtta gggaaacgcc cg 53

<210> 519
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 519
 gctgcaaccc ctcatgcctg gtgaccatag cgagctggaa ccacccc 47

<210> 520
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> *Spingobacterium multivorans*

<400> 520
 taagacagac caataaagat ttttaggtgc ctatatcgcc ggtgtctacc tc 52

<210> 521
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 521
 ccatagagtc acacccttcc tggtgtctat ggccgtatgg aaccactctg acc 53

<210> 522
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
 von Arten der Gattung *Synechocystis*

<400> 522
 agcaaaaccc aaaaatctt cttgggtct ttagcgtcat ggaaccactc cgatcccatc 60

<210> 523
 <211> 53
 <212> DNA
 <213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 523
 ttttgtttc cttgtaaaaa ccctgggtgg taaagaaaag aggaaacacc tgt

53

<210> 524
 <211> 51

<212> DNA
<213> Chlamydia trachomatis

<400> 524
gagaaacgat gccaggatta gcttgggtat aatagagaga gggaaacacc t 51

<210> 525
<211> 138
<212> DNA
<213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 525 ..
ctataacctt ggttagtccaa ggtagtccaa aactgctcgta tacaagctac aacccaacaa 60
tacttcttcc agattcatgg ccacgctgaa caaagcgtag ggtgggcggc tgnccgccc 120
acgcgttaact caagcgt 138

<210> 526
<211> 107
<212> DNA
<213> Zymomonas mobilis

<400> 526
ttttgagaac tccactgtca atgtcagcat tgctgacctg ataatgtttt ctcttagctc 60
ttttgaatat cttcgatttt caattaactt cacgcacagg tgtcata 107

<210> 527
<211> 167
<212> DNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet
von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 527
atacaacacc caagcagttg tatataaaagc atcaatcgat tcattaatat gcaaagcaac 60
ttgattttagt tatacgctta gctaaaatga acaaaatata gtaagactca atcagcccat 120
tgtaaagat ttggaaaacg catcgcaac caataagacc aatgcaa 167

<210> 528
<211> 225
<212> DNA
<213> Borrelia burgdorferi

<400> 528
ctgcgagttc gcgggagagt aagttattgc cagggttttt tattttttt tagtttttat 60
gttattttaaa tggcttattc aaacaacata aaaaagaaaa tagatattga catggattaa 120
acaaaagata tatatttttc tatgttgcattt aaacaaattt gcaaagtata gatgaaagat 180
aaaaatatgg tcaaagtaat aagagtctat ggtgaatgcc tagga 225

<210> 529
<211> 681
<212> DNA
<213> Xanthomonas campestris

<400> 529
tggagcaaga cgtcattcgt cctagtcggg cgtcctcaca aattacctgc attcagagat 60
tcataccggc acaggcgtt atgcgaagtc cctttgggg ctttagctca gctggagag 120

cacctgctt gcaagcaggg ggtcgctgg tcgatcccga caggctccac catattgagt 180
gaaaagactt cgggtctgtt gctcagggtgg ttagagcgca cccctgataa gggtgaggtc 240
ggtagttcga gtctacccag acccaccact ctgaatgttag tgacactta agaatttata 300
tggatcagcg ttgaggctga gacatgttct ttataactt gtgacgttagc gagcgtttga 360
gatatacttc taaacgtgtc gttgaagcta aggccgggac ttcgagtc taaataattt 420
agtctgtatgt tcgcgttggg tggctttgtt acccacacaa cacgtacatg ttagctccga 480
ggcaacttgg gtttatatgg tcaagcgaa aagccgcacac ggtggatgcc taggcgggtca 540
gtggcgatgt aggacgtggt agcctgcgaa aagtgtcggg gagctggcaa caagctttga 600
tccggcaata tccgaatggg gaaacccact gcttcggcag tatcttgcag tgaattcata 660
gctgcttcaa gcgaaccccg t 681

<210> 530

<211> 229

<212> DNA

<213> Cowduria ruminantium

<400> 530

ggtgtgttaag tatggtaaca tatgttagcta accagtacta atagcccgat tgatttactt 60
attttaat tataatgtgtt attaaaactg cagcttgcct ttgttttat ttgttttat 120
gtttaatttgg ggtgggtggt aatagcagaa gtgatacacc cagctacatt tcgaacctgg 180
tagttaagcc ttctagcgct tatggtaactt tgtcttaagg cacgggaga 229

Patentansprüche

1. Nukleinsäuremoleküle als Sonde und/oder Primer zum Nachweis von Bakterien, ausgewählt aus
 - a) Nukleinsäuremoleküle, umfassend, mindestens eine Sequenz mit einer der SEQ ID-Nrn. 1 bis 530 und/oder eine Sequenz aus Position 2667 bis 2720, 2727 bis 2776, 2777 bis 2801, 2801 bis 2832, 2857 bis 2896, 2907 bis 2931, 2983 bis 2999 und/oder 3000 bis 3032 gemäß SEQ ID Nr. 1; bzw. hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 70 % identischen Nukleinsäuren,
 - b) Nukleinsäuremolekülen, die spezifisch mit einer Nukleinsäure nach a) hybridisieren;
 - c) Nukleinsäuremolekülen, die 70 %, vorzugsweise mindestens 90 % Identität zu einer Nukleinsäure nach a) oder b) aufweist,
 - d) Nukleinsäuremolekülen, die komplementär zu einer Nukleinsäure nach a) bis c) sind.
2. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es mindestens 10 Nukleotide, vorzugsweise mindestens 14 Nukleotide lang ist.
3. Nukleinsäuremolekül nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Nukleinsäuremolekül dadurch modifiziert ist, daß bis zu 20 % der Nukleotide in 10 aufeinanderfolgenden Nukleotiden, insbesondere 1 oder 2 Nukleotide aus dem 10er-Block durch Nukleotide ersetzt sind, die in Bakterien nicht natürlich vorkommen.

4. Nukleinsäuremolekül nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Nukleinsäuremolekül so modifiziert bzw. markiert ist, daß es in an sich bekannten analytischen Nachweisverfahren ein Signal erzeugen kann, wobei die **Modifikation** ausgewählt wird aus (i) radioaktiven Gruppen (ii) farbigen Gruppen, (iii) fluoreszierenden Gruppen, (iv) Gruppen zur Immobilisierung von einer festen Phase und (v) Gruppen, die eine indirekte oder direkte Reaktion, insbesondere mit Hilfe von Antikörpern, Antigenen, Enzymen und/oder Substanzen mit Affinität zu Enzymen oder Enzymkomplexen, erlauben.
5. Kombination aus mindestens 2 Nukleinsäuremolekülen ausgewählt aus
 - a) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, die gegenüber der Sequenz SEQ ID-Nr. 1, Position 2571 bis 2906, verkürzt ist und mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem transkribierten Spacer zwischen den 23 S- und 5 S-Genen entsprechend der Position 2907 bis 2999 in SEQ ID-Nr. 1 verkürzt oder nicht verkürzt ist, oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Molekülen;
 - b) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem transkribierten Spacer zwischen den 23 S und 5 S-Genen, der Position 2907 bis 2999 aus SEQ ID-Nr. 1 verkürzt oder nicht verkürzt ist und mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem 5 S rDNA Gen mit der Sequenz zwischen Position 3000 bis 3112 aus SEQ ID-Nr. 1, verkürzt ist; oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Molekülen;
 - c) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem 23 S-Gen mit der Sequenz von Position 2907 bis 2999 aus SEQ ID-Nr. 1 verkürzt oder nicht verkürzt ist und mindestens eines verkürzten DNA-Moleküls aus

dem 5 S rDNA-Gen von Position 3000 bis 3112 aus SEQ ID-Nr. 1, oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Molekülen;

d) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem 23 S-Gen mit Sequenz von Position 2571 bis 2906 der SEQ ID-Nr. 1 verkürzt ist und mindestens eines verkürzten DNA-Moleküls aus dem 5 S rDNA-Gen von Position 3000 bis 3112 aus SEQ ID-Nr. 1 oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Moleküls,

e) einer Kombination aus 2 Nukleinsäuremolekülen nach Anspruch 1;

f) einer Kombination, die mindestens ein DNA-Molekül enthält, das mit einem Bereich hybridisiert, der mindestens 100 Nukleotide stromaufwärts vom 3'-Ende der 23S rDNA, also innerhalb der 23S rDNA, hybridisiert;

wobei die Kombination gemäß a) bis f) auch ein zusammengesetztes Nukleinsäuremolekül sein kann, das mindestens 15 Basenpaare umfaßt, zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, vorzugsweise von Enterobakterien.

o. Kit, enthaltend ein Nukleinsäuremolekül oder eine Kombination an Nukleinsäuremolekülen nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

7. Verfahren zum Nachweis von Bakterien, vorzugsweise Enterobakterien, in einer Analysenprobe, umfassend den Schritt Inkontaktbringen der Analysenprobe mit einer Nukleinsäure oder einer Kombination an Nukleinsäuren nach einem der Ansprüche 1 bis 5 und Nachweis geeigneter Hybridnukleinsäuren, umfassend die eingebrachte Nukleinsäure und bakterielle Nukleinsäure.

8. Verfahren zur Amplifikation bakterieller DNA einer Vielzahl verschiedener taxonomischer Einheiten, insbesondere Gattungen und Arten, unter Verwendung von Primern nach den Ansprüchen 1 - 5, wobei

in einem ersten Amplifikationsschritt die DNA für hohe taxonomische Einheiten wie Klassen, Abteilungen oder Familien, mit konservierten Primern amplifiziert werden und gegebenenfalls in mindestens einem weiteren Amplifikationsschritt (EN) mit verschachtelten, zunehmend variablen Primern, Teile des ersten Amplifikationsfragmentes, die spezifisch für Gattungen, Arten oder Spezies sind, vermehrt werden können und ggf. in einem weiteren Schritt die durch Amplifikation erhaltenen DNA-Fragmente, die für Gattungen, Arten oder Spezies spezifisch sind, mit Hilfe von Sonden nachgewiesen werden.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren eine PCR-Amplifikation der nachzuweisenden Nukleinsäure umfaßt.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren eine Southernblotthybridisierung umfaßt.
11. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zum Nachweis von Bakterien bzw. bakterieller Nukleinsäuren
12. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Nachweis eine Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) umfaßt.
13. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Nachweis eine Ligase-Kettenreaktion umfaßt.

14. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Nachweis eine isotherme Nukleinsäureamplifikation umfaßt.
15. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zum Identifizieren und/oder Charakterisieren von Bakterien.

16. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nr. 211 und/oder Nr. 212 oder hiervon abgeleiteter Derivate wie in Anspruch 1 a) bis d) definiert zum Nachweis beliebiger Eubakterien oder taxonomischer Einheiten der Eubakterien.
17. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 1 bis 26, 34, 42, 54, 66, 78, 85, 135 bis 153, 166 bis 201, 96 bis 121, 125 und/oder 202 bis 212 nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zum Nachweis der Familie der Enterobacteriaceae oder eines beliebigen Bakteriums der Familie der Enterobacteriaceae.
18. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 2 bis 95, 135 bis 201, 211 bis 214, 252, 253, 289, 290, 326, 327, 361, 362, 401, 402 und/oder 486 nach Anspruch 1 zum Nachweis des γ -Zweigs der Proteobakterien oder eines beliebigen Bakteriums des γ -Zweigs der Proteobakterien.

19. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 251, 288, 325, 326, 400, 431 und/oder 524 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Chlamydiales oder Verrumicrobia oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Chlamydiales oder Verrumicrobia.

20. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 248, 285, 322, 357, 397, 429, 521, 249, 286, 323, 358, 398, 430 und/oder 522 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Cyanobacteria oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Cyanobacteria.
21. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nr. 395, 428, 519, 246, 283, 320, 355, 520, 247, 284, 321, 356 und/oder 396 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Cytophagales oder der Gruppe der grünen Schwefelbakterien oder eines beliebigen Bakteriums der Gruppe der Cytophagales oder der Gruppe der grünen Schwefelbakterien.
22. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 230 bis 245, 269 bis 282, 306 - 319, 341 - 354, 376 - 394, 411 bis 427 und/oder 505 bis 518 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Firmicutes oder grampositiven Bakterien oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Firmicutes oder grampositiven Bakterien.
23. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 250, 287, 324, 359, 399 und/oder 523 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Spirochaetales oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Spirochaetales.
24. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 42, 96, 135 und/oder 166 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß
 - es die Gattung Budvicia,
 - oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Budvicia,

oder beliebige Stämme der Gattung Budvicia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist..

25. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 42, 114-119, 151, 164 und/oder 183 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Serratia,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Serratia,

oder beliebige Stämme der Gattung Serratia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist

26. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 96, 125, 186 und/oder 201 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Cedecea,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Cedecea,

oder beliebige Stämme der Gattung Cedecea,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist

27. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 97, 136, 167 und/oder 187 nach Anspruch 1 zum Nachweis von

Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Buttiauxella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Buttiauxella*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Buttiauxella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

8. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 98, 137, 165, 168 und/oder 188 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Enterobacter*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Enterobacter*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Enterobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist

29. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 99, 100, 138, 139, 169, 170, 189 und/oder 190 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Erwinia*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Erwinia*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Erwinia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

30. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 1, 1013, 140-142, 165, 171-173, 187, 191 und/oder 192 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Escherichia,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Escherichia,
oder beliebige Stämme der Gattung Escherichia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

31. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 104, 143, 174 und/oder 193 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Hafnia,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Hafnia,
oder beliebige Stämme der Gattung Hafnia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

32. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 105, 144, 165, 175 und/oder 187 nach Anspruch 1 zum Nachweis

von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Klebsiella,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Klebsiella,

oder beliebige Stämme der Gattung Klebsiella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

3. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 107, 146, 176 und/oder 194 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Morganella,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Morganella,

oder beliebige Stämme der Gattung Morganella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

34. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 108, 109, 147, 165, 177, 178, 187 und/oder 188 nach Anspruch 1 ~~zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien~~ aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Pantoea,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Pantoea,

oder beliebige Stämme der Gattung Pantoea,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

35. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 110, 111, 148, 149, 179, 180, 195 und/oder 196 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet ist, daß**

es die Gattung *Proteus*,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Proteus*,
oder beliebige Stämme der Gattung *Proteus*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

36. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 121, 122, 152, 153, 164, 184, 185, 199 und/oder 200 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet ist, daß**

es die Gattung *Yersinia*,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Yersinia*,
oder beliebige Stämme der Gattung *Yersinia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

37. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 112, 149, 181 und/oder 197 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet ist, daß**

es die Gattung *Providencia*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Providencia*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Providencia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

38. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 113, 150, 164, 182 und/oder 198 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Rahnella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Rahnella*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Rahnella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

39. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 202 und/oder 203 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Citrobacter*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Citrobacter*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Citrobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

40. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 204-210, 401, 432 und/oder 486 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Salmonella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Salmonella*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Salmonella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

41. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 27, 35, 43, 55, 67, 79, 86, 122 und/oder 154 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder die Familie der Moraxellaceae der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Moraxellaceae der γ -Gruppe,

oder die Gattung *Acinetobacter*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Acinetobacter*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Acinetobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

42. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 28, 36, 44, 56, 68, 80, 87, 123, 124 und/oder 155 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die "Aeromonas-Gruppe" der γ -Gruppe der Proteobakterien,
oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus der "Aeromonas-Gruppe" der γ -Gruppe,
oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der "Aeromonas-Gruppe" der γ -Gruppe,
oder die Gattung Aeromonas,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Aeromonas,
oder beliebige Stämme der Gattung Aeromonas,
unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

43. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 29, 37, 45, 57, 69, 81, 88, 126 und/oder 156 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie der Pasteurellaceae der γ -Gruppe,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus der Familie der Pasteurellaceae der γ -Gruppe,

oder die Gattung *Haemophilus*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Haemophilus*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Haemophilus*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

4. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 30, 38, 46, 58, 70, 82, 89, 127 und/oder 157 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder die Familie der Moraxellaceae der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Moraxellaceae der γ -Gruppe,

oder die Gattung *Moraxella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Moraxella*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Moraxella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

45. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 31, 39, 47, 59, 71, 83, 128 und/oder 158 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie der Pasteurellaceae der γ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Pasteurellaceae der γ -Gruppe,

oder die Gattung Pasteurella,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Pasteurella,

oder beliebige Stämme der Gattung Pasteurella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

46. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 32, 40, 48, 60, 72, 84, 90, 129 und/oder 159 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Xanthomonas-Gruppe der γ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Xanthomonas-Gruppe der γ -Gruppe,

oder die Gattung Stenotrophomonas,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Stenotrophomonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Stenotrophomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

47. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 33, 41, 50-53, 61-65, 73-77, 91-95, 130-134, 160-162 und/oder 163 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie der Vibrionaceae der γ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Vibrionaceae der γ -Gruppe,

oder die Gattung Vibrio,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Vibrio,

oder beliebige Stämme der Gattung Vibrio,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

48. Verwendung des Nukleinsäuremoleküls SEQ ID 474 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie und/oder Mitglieder der Familie der Azotobacteriaceae,

oder die Gattung Azotobacter,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Azotobacter,

oder beliebige Stämme der Gattung Azotobacter,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

49. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 402, 433, und/oder 487 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gattung Buchnera,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Buchnera,

oder beliebige Stämme der Gattung Buchnera,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

50. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 213, 252, 289, 326, 361, 403, 434 und/oder 488 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe der Proteobakterien,

oder die fluoreszierende Gattung Pseudomonas

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Pseudomonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Pseudomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

51. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 529 nach Anspruch 1 -10 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Xanthomonas-Gruppe der γ -Gruppe der Proteobakterien,
die Gattung Xanthomonas
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Xanthomonas,
oder beliebige Stämme der Gattung Xanthomonas,
unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder
Mikroorganismen nachweist.

52. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 213, 252, 289, 326, 361, 403, 434 und/oder 488 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem γ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet ist, daß sie**

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,
oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,
oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,
oder die Gattung Pseudomonas,
oder die Art Pseudomonas stutzeri,
oder beliebige Stämme der Gattung Pseudomonas aus der Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der γ -Gruppe,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

53. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 216, 255, 292, 329, 364, 437 und/oder 491 nach Anspruch 1 zum

Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rickettsiales,
oder die Familie der Rickettsiaceae
oder die Gattung Adalia,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Adalia,
oder beliebige Stämme der Gattung Adalia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

54. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 215, 254, 291, 328, 363, 436 und/oder 490 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie der Rhizobiaceae,
oder die Gattung Agrobacterium,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Agrobacterium,
oder beliebige Stämme der Gattung Agrobacterium,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

55. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 439 und/oder 492 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rhizobiaceae-Gruppe oder Rhizobacteria,

die Gattung Brucella,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Agrobacterium,
oder die Art Brucella abortus
oder beliebige Stämme der Gattung Brucella,
unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

56. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 218, 257, 294, 331, 365, 439 und/oder 492 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rhizobiaceae-Gruppe oder Rhizobacteria,
oder die Gattung Brucella,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Agrobacterium,
oder die Art Brucella ovis
oder beliebige Stämme der Gattung Brucella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

57. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 439 und/oder 492 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien ~~oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet~~ ist, daß sie

die Rhizobiaceae-Gruppe oder Rhizobacteria,
oder die Gattung Brucella,
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Agrobacterium,
oder die Art Brucella orientalis

oder beliebige Stämme der Gattung *Brucella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

58. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 219, 258, 295, 331, 366, 440 und/oder 493 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Bradyrhizobium*-Gruppe,

oder die Gattung *Bradyrhizobium*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Bradyrhizobium*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Bradyrhizobium*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

59. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 530 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Rickettsiales*,

oder die Familie *Rickettsiaceae*,

oder die *Ehrlichieae*,

der die Gattung *Cowduria*,

der beliebige Stämme der Gattung *Cowduria*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

60. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 220, 259, 296, 332, 367, 441 und/oder 494 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Zymomonas-Gruppe der α -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung Sphingomonas,

oder die Spezies Pseudomonas paucimobilis,

oder beliebige Stämme der Gattung Sphingomonas oder der Spezies Pseudomonas paucimobilis,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

61. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 221, 260, 297, 333, 368, 442 und/oder 495 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rhodobacter-Gruppe der α -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung Rhodobacter,

oder beliebige Stämme der Gattung Rhodobacter,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

62. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 222, 261, 298, 333, 369, 443, 496, 497 und/oder 498 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rickettsiales,

oder die Rickettsiaceae,

oder die Rickettsieae,

oder die Gattung Rickettsia,

oder die Spezies Rickettsia prowazekii oder Rickettsia bellii oder Rickettsia rickettsii,

oder beliebige Stämme der Gattung Rickettsia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

63. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 223, 262, 299, 334, 370, 405, 499 und/oder 525 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Zymomonas-Gruppe der α -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung Sphingomonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Sphingomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

64. Verwendung des Nukleinsäuremoleküls SEQ ID 485 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rickettsiales,

oder die Rickettsiaceae,

oder die Wolbacieae,
oder die Gattung Wolbacia,
oder beliebige Stämme der Gattung Wolbacia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

65. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ

ID Nrn. 224, 263, 300, 335, 371, 500 und/oder 526 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Zymomonas-Gruppe der a-Gruppe der Proteobakterien,
oder die Gattung Zymomonas,
oder beliebige Stämme der Gattung Zymomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

66. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ

ID Nrn. 225, 264, 301, 336, 372, 406, 501 und/oder 527 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Alcaligenaceae,
oder die Gattung Alcaligenes,
oder beliebige Stämme der Gattung Alcaligenes,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

67. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 226, 265, 301, 337, 407, 444 und/oder 502 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Pseudomallei-Gruppe der Pseudomonaden der β -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung *Pseudomonas* der Pseudomallei-Gruppe,

oder beliebige Stämme der Gattung *Pseudomonas* der Pseudomallei-Gruppe,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

68. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 227, 266, 303, 338, 373, 408, 445 und/oder 503 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Burkholderia*-Gruppe,

oder die Gattung *Ralstonia*,

oder oder beliebige Stämme der Gattung *Ralstonia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

69. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 228, 267, 304, 339, 374, 409 und/oder 446 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Campylobacter*-Gruppe,

oder die Gattung *Campylobacter*,
oder die Spezies *Campylobacter jejuni*,
oder beliebige Stämme der Gattung *Campylobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

70. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ

ID Nrn. 229, 268, 305, 340, 375, 410, 447 und/oder 504 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Helicobacter*-Gruppe,
oder die Gattung *Helicobacter*,
oder die Spezies *Helicobacter pylori*,
oder beliebige Stämme der Gattung *Helicobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuremoleküle, die die Identifikation von Bakterien oder Bakteriengruppen ermöglichen. Bei dem Nachweis wird die 23S/5S rRNA enthaltende Region des bakteriellen Genoms als Zielsequenz für den Bakteriennachweis eingesetzt.

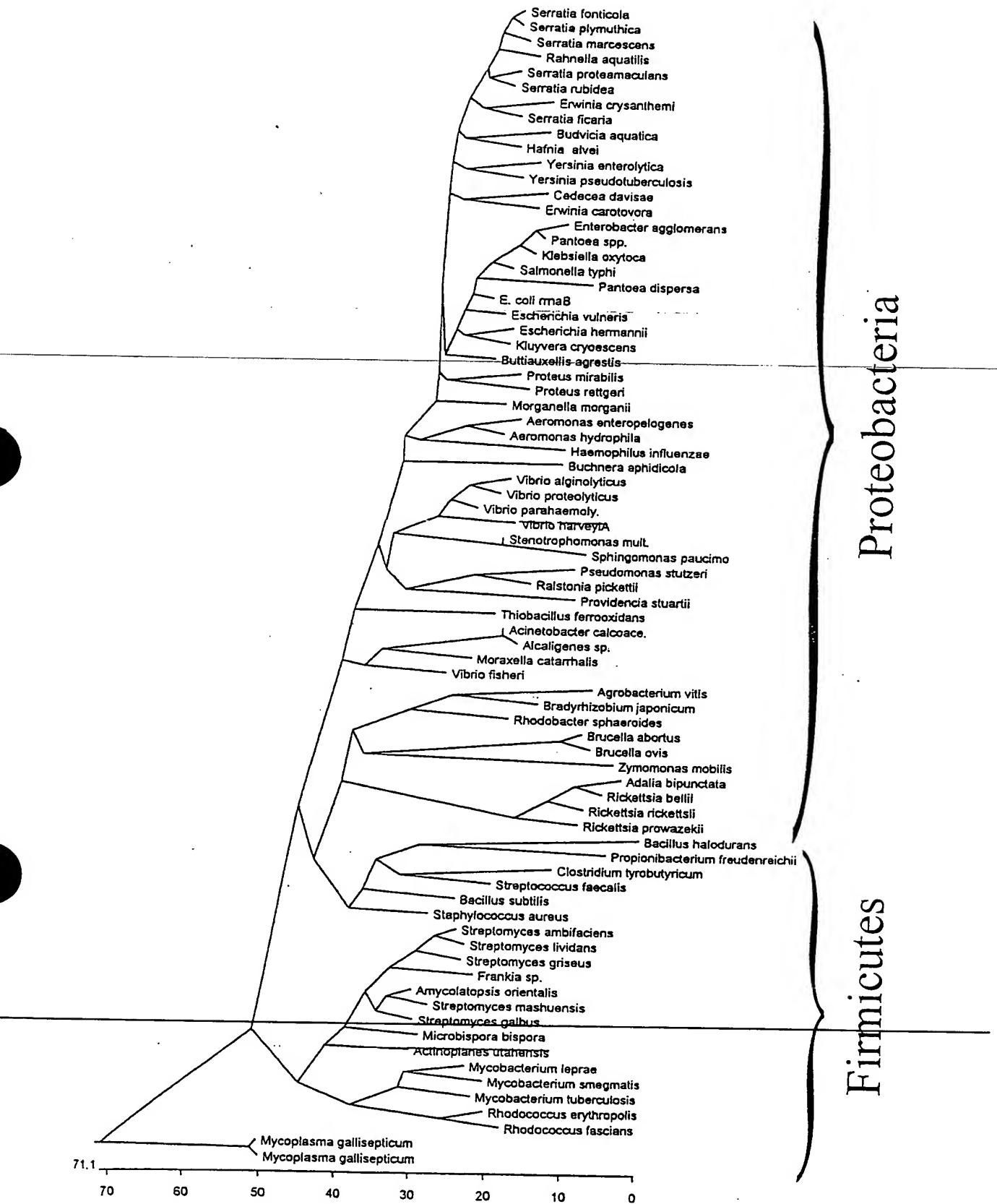


Abb. 1

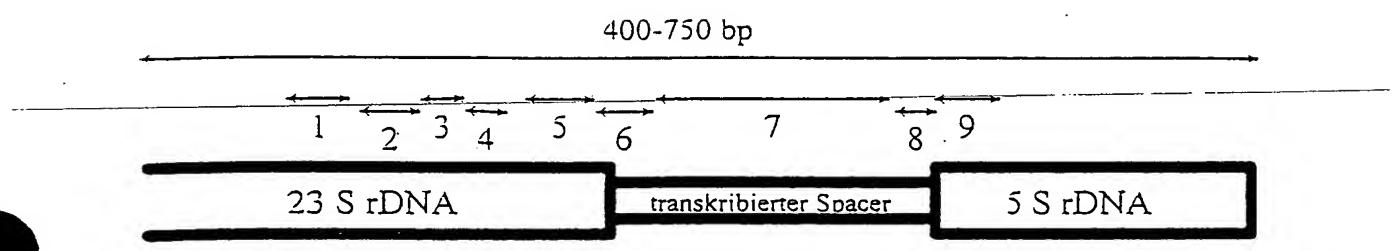


Abb. 2

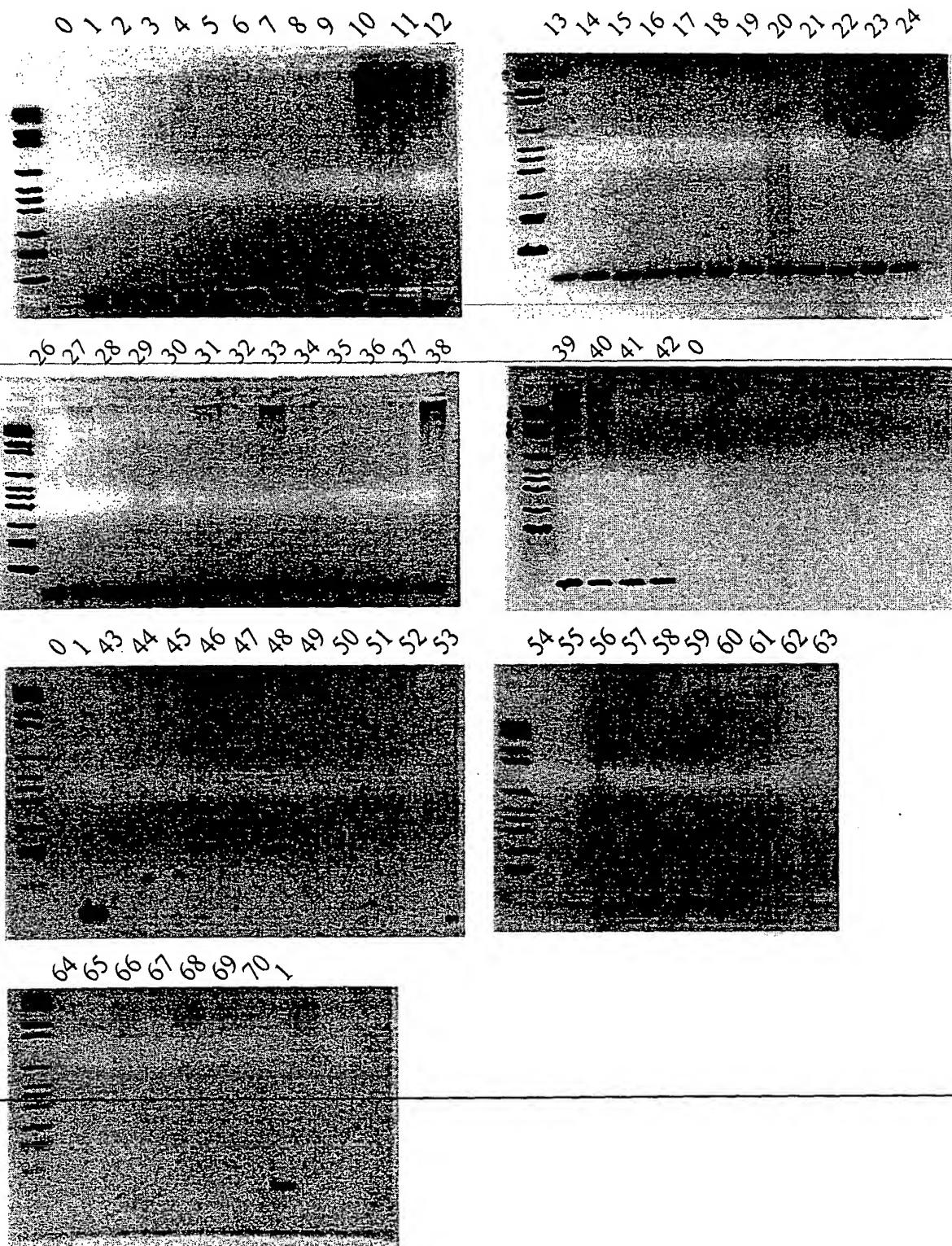
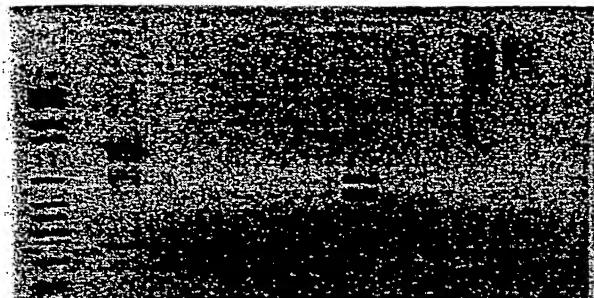
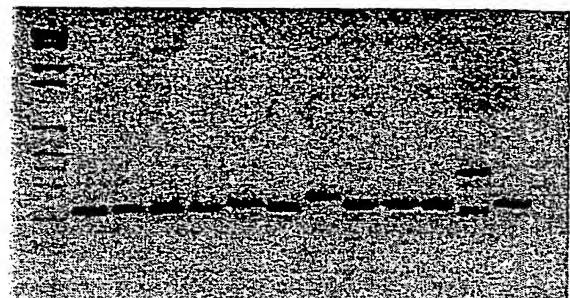


Abb. 3

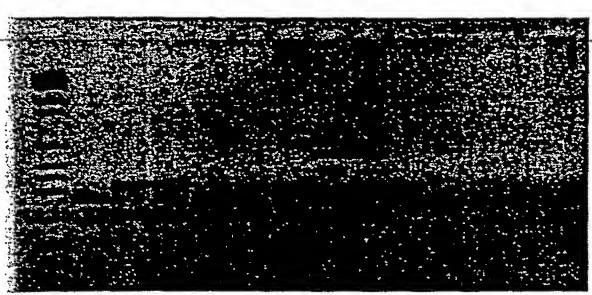
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



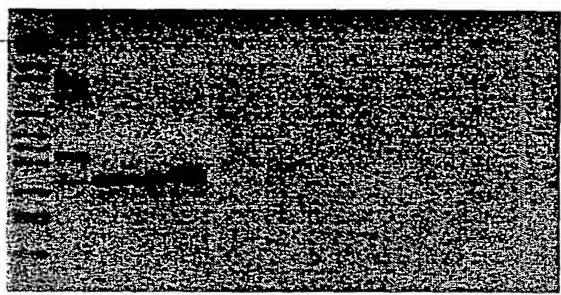
13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24



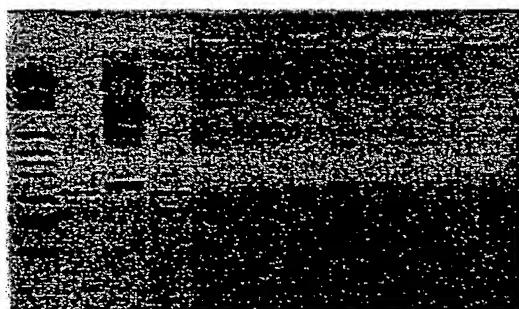
25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38



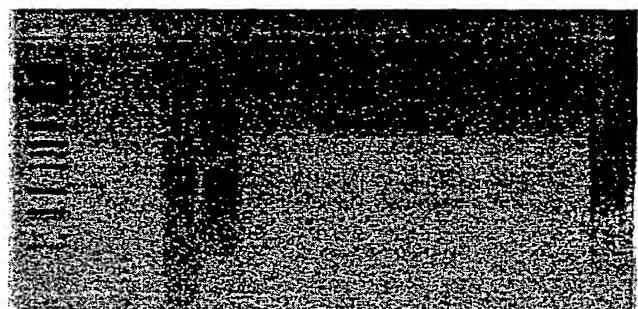
39 40 41 42 0



0 1 43 44 45 46 47 48 50 51 52



53 54 .. 56 .. 57 58 59 60 61 .. 62 63

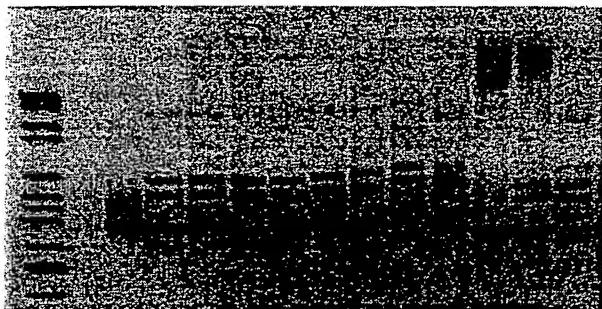


64 65 66 67 68 69 1

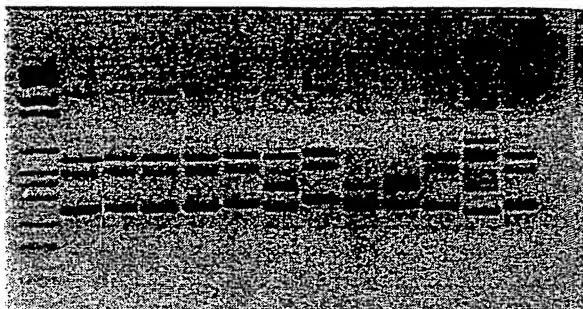


Abb. 4

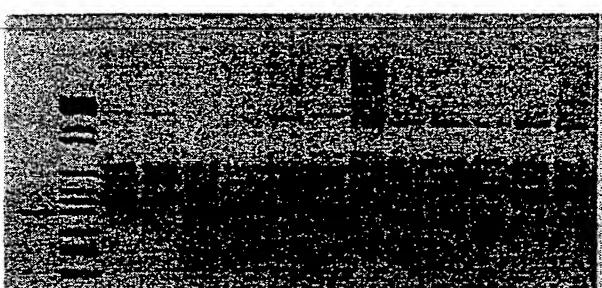
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24



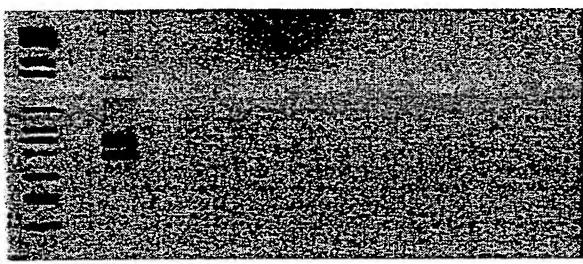
25 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38



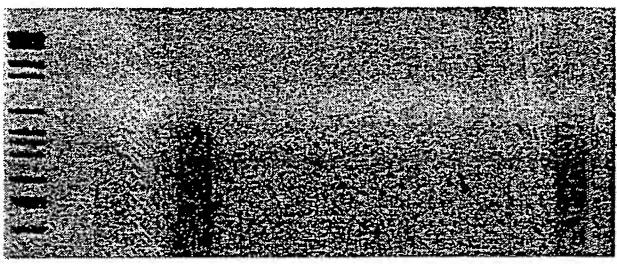
39 40 41 42 0



0 1 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53



54 55 .. 56 .. 57 58 59 60 61 .. 62 63



64 65 66 67 68 69 1

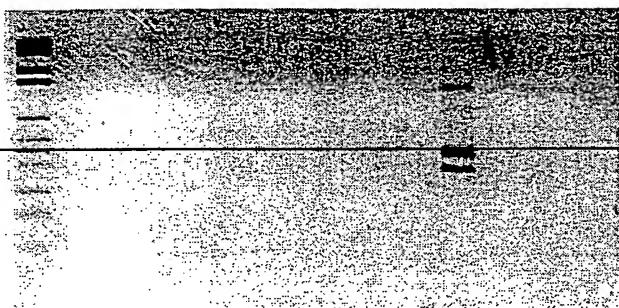


Abb. 5

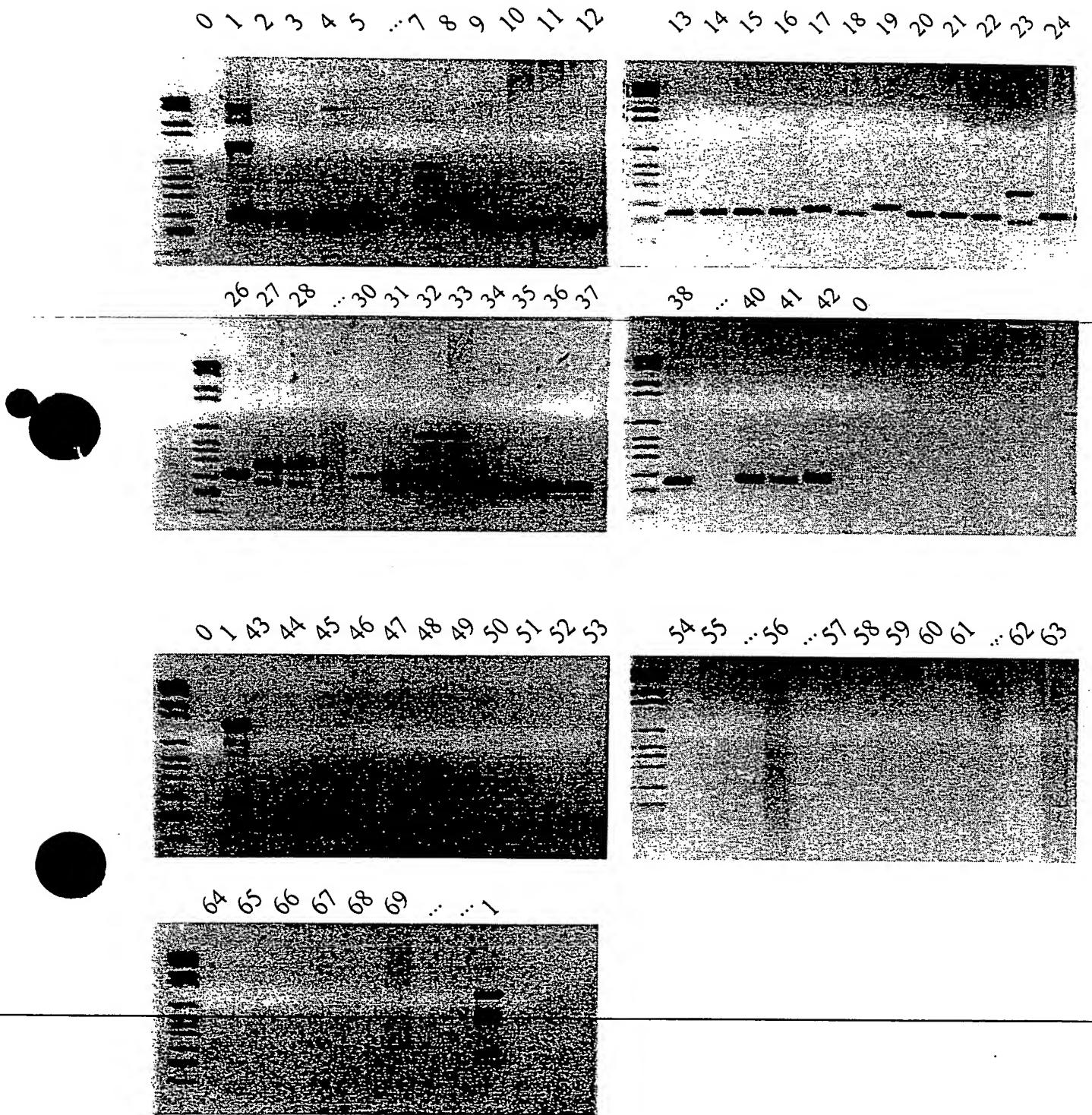


Abb. 6

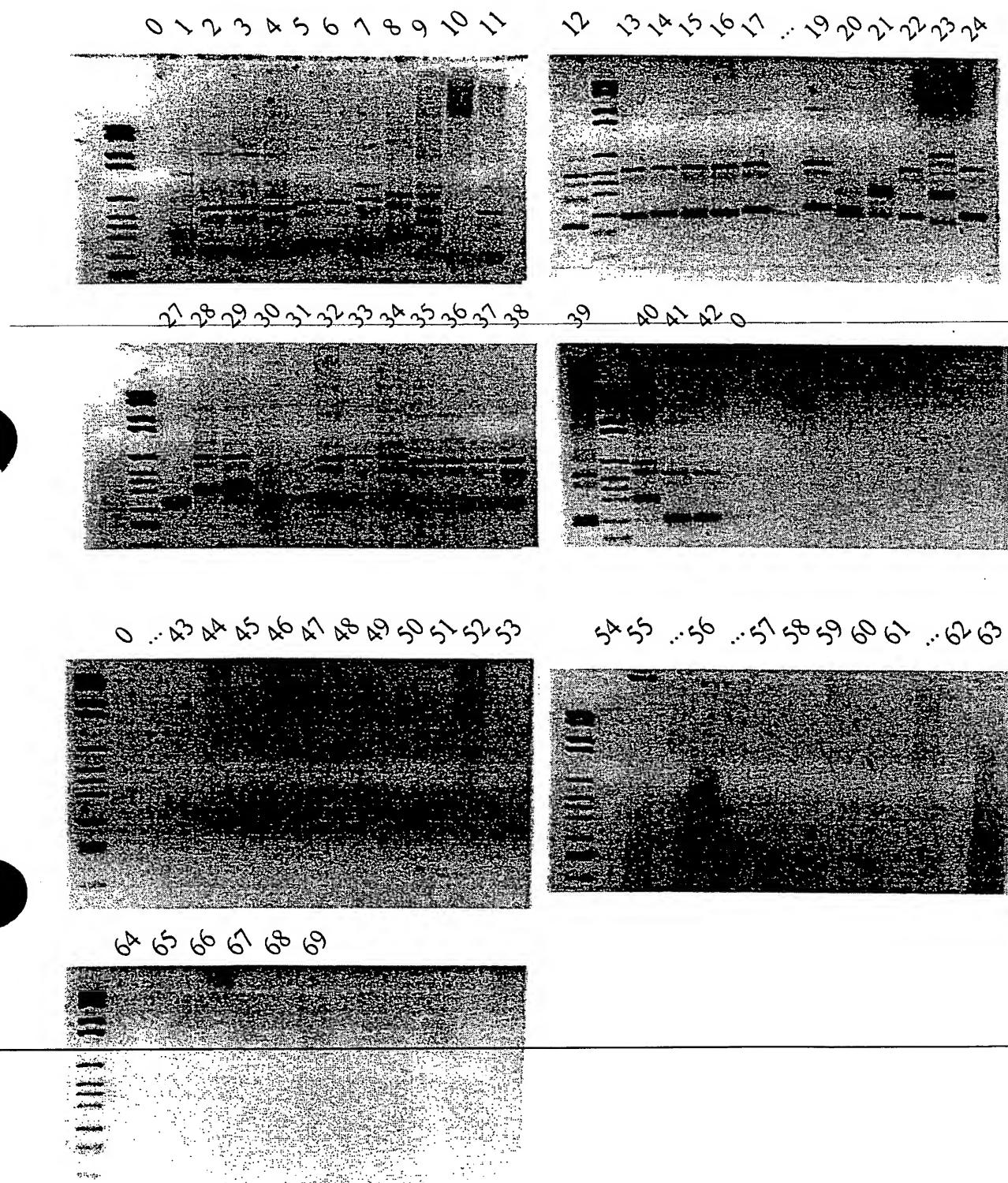


Abb. 7

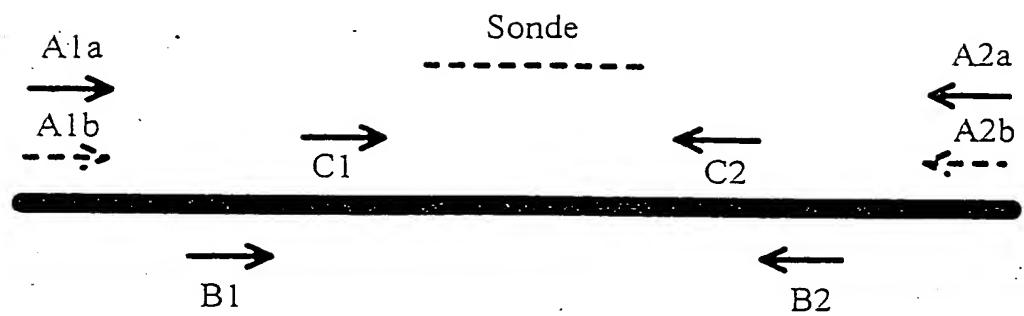


Abb. 8